Vol. III Settembre 1931 - A. IX Fasc. IX

SOCIETÀ INTERNAZIONALE DI MICROBIOLOGIA

BOLLETTINO

DELLA

SEZIONE ITALIANA

SOMMAIRE

VERONA O. (avec la collaboration de M. G. LUCHETTI) – **A' propos de la scission microrganique de certains glucosides.**

Comme on le sait les glucosides sont des substances chimiques particulières plus ou moins repandues dans les organismes, et résultant de la condensation anhydrique d'un sucre, généralement le glucose, avec un corps de nature alcoolique ou phénolique.

Dans l'organisme végétal ces glucosides sont présents en tous les organes de la plante, exception faite pour la graine qui, parfois, en est dépourvu; leur localisation est variée, rarement spécifique, et ils ont probablement une fonction antitoxique par rapport aux substances qui – si elles seraient libres – pourraient provoquer un empoisonnement.

Grâce aux acides faibles, ou bien à des enzimes particuliers nommés « glucosidases », les glucosides sont sujets à la scission hydrolytique qui est suivie par la mise en liberté de leurs composants; le cours du phénomène est déjà assez connu (1).

La présence de ces enzime a été avérée soit dans le suc végétal de plusieurs plantes, soit en quelques microrganismes, en des bactéries et en des moisissures; le travail de *MM. Buchanan* et *Fulmer* peut donner tout renseignement à ce propos (2).

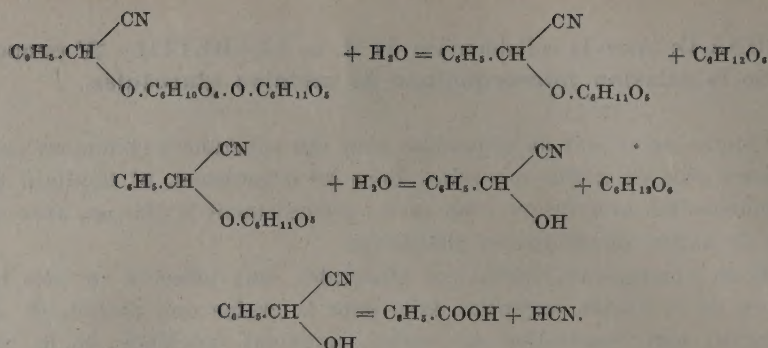
Il n'est pas difficile à présumer quelle est la signification biologique de la présence de ces enzimes dans le corps microrganique, car on obtient, comme produit d'hydrolyse, du glucose qui – comme on sait – est source alimentaire excellente pour les microbes. Les expériences, dont nous allons relater ici, appuyeraient cette hypothèse, puisqu'on a toujours obtenu un plus fort développement microrganique dans les substratums contenant des glucosides, que dans ceux qui en étaient dépourvus, et on n'a pas eu, après la scission, la réduction de Fehling dans les liquides culturaux; le glucose, qui est le produit de l'hydrolyse, serait donc ultérieurement utilisé.

Mais ce qui, en apparence, n'est pas clair, c'est le fait que parfois la scission des glucosides donne origine à des composés qui sont considérés comme vénéneux, ainsi qu'il arrive, par ex., lors de la scission de l'amigdaline, laquelle, après avoir donné origine à la prunasine et, de cette dernière, au nitrile mandélique, donne lieu à de l'acide cyanhydrique:

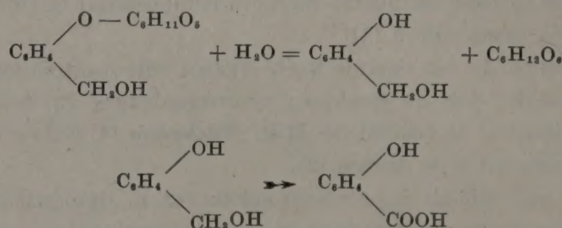
---

(1) *E. F. Armstrong*, « The simple carbohydrates and glucosides ». London, 1919. – *G. Trier*, « Chemie der Pflanzenstoffe ». Berlin, 1926.

(2) *R. E. Buchanan* and *E. Fulmer*, « Physiology and Biochemistry of Bacteria ». Vol. III, pag. 73 etc., 1930.



Il en est de même avec la salicine (v. ce travail) laquelle, après avoir être transformée en saligénine s'oxyde en acide salicylique:



Mais, tandis que la scission peut s'arrêter à une de ses premières phases, ainsi qu'il arrive chez certaines formes, hyphomycétiques la plupart, et qui n'ont pas de tolérance pour la présence de composés vénéneux, on connait pourtant la possibilité de développement de quelques microrganismes vis-à-vis de ces composés qui, ultérieurement, seraient même utilisés, comme il arrive, par ex., pour l'acide salicylique (3).

***

Au moment d'entreprendre les recherches dont il est question, il a été nécessaire de s'assûrer, prêalablement, que la stérilisation des liquides culturaux, contenant les glucosides, n'en aurait pas provoqué – de par elle-même – la scission. Après avoir constaté que la méthode de stérilisation adoptée n'exerce aucune influence sur l'hydrolise des glucosides à l'expérience – et précisément: l'arbutine, la salicine, la fluorizine – con-

(1) *O. Verona,* V. ce Bulletin Fasc. VI, 1931.

tenus dans le substratums, on a préparé sans plus le milieu nutritif suivant:

eau	1000
tartrate ammoniaque	2
phosphate bipotassique	2
chlorure sodique	tr.
sulfate potassique	tr.
glucoside	2
(carbonate de calcium)	1 (1)

Ensuite, on a réparti le tout en des Erlenmeyers et on l'a inoculét, moyennant un cmc. de délayage aqueux de $\frac{\text{1 p. de terre}}{\text{1 p. d'eau}}$.

Le matériel d'inoculation a été prélevé de six types caractéristiques de terrein et, ayant soin de garder pour chaque série de glucosides, quelques Erlenmeyers stériles, nous avons cultivé à 24° C. Les observations ont été faites tous les jours, afin d'établir, éventuellement, la différente vitesse de scission de chaque terreins. Il en est résulté:

	Arbutine	*Salicine*	*Fluorizine*
	(apparition de l'hydrolyse après):		
Terrein N. 1	2 jours	3 jours	6 jours
» » 2	3 »	3 »	5 »
» » 3	6 »	2 »	6 »
» » 4	3 »	4 »	4 »
» » 5	4 »	5 »	3 »
» » 6	3 »	3 »	4 »

Chaque terrein expérimenté montra donc d'être apte à séparer les glucosides avec une différente activité, suivant sa différente nature; probablement cela était dû non pas à la quantité, mais plutôt à la qualité des espèces microrganiques attaquantes; et, en réalité on ne pourrait autrement expliquer comment, par ex., le terrein Nr. 3, en comparaison de toute autre terrein, ait séparé plus rapidement la salicine et plus len-

(1) On a estimé opportun d'additionner le $CaCO_3$ afin de neutraliser la formation éventuelle d'acides de la part des cultures et aussi dans le but d'empêcher des réactions secondaires de la part du terrein, réactions qui auraient pu provoquer une hydrolise de nature chimique. Des épreuves de comparaison, instituées parallèlement sans ajouter cette substance, ou en additionnant du carbonate de soude au lieu du $CaCO_3$, ont démontré qu'en tous cas les faits s'évoluent d'une manière analogue.

tement l'arbutine et la fluorizine et que le terrein Nr. 1 ait séparé immédiatement l'arbutine et la salicine aussi, en séparant la fluorizine seulement après plusieurs jours.

En effet, après le nombrement des germes qui, au début des expériences, étaient contenus dans le matériel d'inoculation, nous avons constaté ce qui suit:

	Nombre des germes pour un gr. de terre:
Terrein Nr. 1	1.450.000
» » 2	1·020.000
» » 3	760.000
» » 4	980.000
» » 5	1.100.000
» » 6	1.230.000

ce qui vient en appui de tout ce que nous avons exposé plus haut.

Le contenu des récipients stériles est demeuré inaltéré.

***

Bien que la scission des glucosides, apparût, quoique non complètement, entre la sixième journée pour tous les types de terreins, on estima opportun de prolonger la culture jusqu'à la quinzième journée. Et cela, parce qu'en ayant cultivé parallèlement une série d'Erlenmeyers dont le liquide cultural ne renfermait pas de glucosides, on aurait pu s'assûrer de la valeur trophique de ces derniers. En effet, moyennant l'examen microscopique, il fut aisé de constater que les cultures renfermant des glucosides, non seulement se montraient plus vigoureuses, mais leur progrès fut d'autant plus grand que la vitesse de scission était plus marquée. De plus, le Fehling, n'étant pas reduit par l'addition d'aliquotes des liquides culturaux, mit en évidence l'utilisation ultérieure du glucose de la part des cultures.

***

Par conséquent on a voulu investiguer l'action que les conditions alimentaires des microbes peuvent exercer sur la scission des glucosides, en considérant particulièrement la source carbohydratée et la source azotée.

Dans un cas nous avons apprêté le liquide cultural que l'on avait déjà employé, et nous y avons ajouté, dans la proportion du 2%, du glucose ou du saccharose, ou bien du lactose, ou du galactose; dans quelques récipients de contrôle on n'a pas ajouté de source carbohydratée.

Ensuite, après avoir inoculé et cultivé comme à l'ordinaire, nous avons désumé l'action favorisante ou entravante des sucres, en tenant compte de la rapidité de scission des glucosides. Il en résulta que cette scission a lieu d'abord dans les liquides ne contenant aucune source carbohydratée, de sorte que les sucres, les dysaccharides surtout, ont semblé empêcher le phénomène, à cause de leur combustibilité plus lente.

On étudia l'action de différentes sources azotées, en ajoutant au liquide cultural ordinaire dépourvu de tartrate ammonique, de l'asparagine ou de l'urée, ou bien du tartrate ammonique, ou du nitrate potassique ou enfin du sulfate ammonique, dans des proportions équivalantes à gr. 0,3252 ‰ de N. Quelques cultures de contrôle ont été laissées dépourvues de source azotée. Après cela, nous avons inoculé et cultivé comme plus haut, ayant soin à ce qu'une autre série d'Erlenmeyers, analoguement préparés, fût apprêtée en même temps et fût gardée stérile.

Tandis que dans les liquides stériles aucune scission des glucosides eut lieu, dans ceux qui renfermaient des cultures microbiennes la scission s'accomplit avant à la présence du sulfate ammonique et du nitrate potassique aussi; plus lentement à la présence des autres composés; et encore plus lentement dans les liquides dépourvus d'azote.

***

La présence des carbohydrates ayant représenté un obstacle pour les épreuves dont nous venons de parler, et la présence des composés de l'azote s'étant démontrée, par contre, favorable, moyennant le liquide ainsi constitué:

eau	1000
sulfate ammonique	1,5
phosphate bipotassique	2
chlorure de sodium	tr.
sulfate de potassium	tr.
carbonate de calcium	1
glucoside	2

nous avons essayé l'aptitude et la vitesse d'action de certaines formes microbiennes isolées en culture pure; à vrai dire, quelques unes d'entre-elles avaient été déjà expérimentées par d'autres rechercheurs, toujours avec des résultats positifs. Néanmoins nous avons pensé qu'il aurait été bon de répéter l'expérience, en tant que cela aurait amené à une connaissance plus profonde du phénomène, d'autant plus que – comme on a déjà eu l'occasion de constater pour quelques formes bactériennes –

l'aptitude et la vitesse à attaquer un même composé glucosidique peut varier suivant les différentes souches, aussi pour une même espèce.

Les formes que nous avons essayées et qui se sont montrées actives sur l'arbutine et sur la salicine ont été les suivantes: *Bact. fluorescens liquefaciens* Nr. 1 et Nr. 2, *Bact. coli* Nr. 1 et Nr. 2, *Proteus vulgaris*, *Bact discoformans*, *Bact. punctatum*, Nr. 1 et Nr. 2, *Bact. helvolum*, *Saccaromyces cerevisiae* et *ellipsoideus*, *Penn. crustaceum*, *Asp. niger* et *varians*, *Rhizopus nigricans*, *Tricothecium roseum*, *Fusarium* sp.

Les formes qui ont résulté actives sur la fluorizine, ont été: *Bact. fluor. liquef.* Nr. 2, *Bact. coli*, *Proteus vulgaris*, *Bact. discoformans*, *Bact. helvolum*, *Asp. niger* et *varians*, *Rhizopus nigricans*, *Tricothecium roseum*, *Fusarium* sp.

***

On a déjà mentionné que la démolition des glucosides ne s'arretê pas toujours aux premiers produits de la scission. On a rappelé aussi, comme un fait bien connu, ce qui arrive, par exemple, pour l'amigdaline; et on a encore parlé du fait que nous avons observé à propos de la salicine, laquelle, après avoir été séparée en saligénine, est transformée en acide salicylique avec une conséquente oxydation ultérieure de ce dernier.

La démolition des acides par la voie microrganique est, à vrai dire, un fait suffisamment connu, du moins pour ce qui concerne la plupart des acides mêmes, ou les plus importants d'entre-eux. Cependant, l'acide salicylique expérimenté par M. De Jong (1) ne résulterait pas apte à être utilisé, dans la proportion du 5 °/₀₀, par aucune des 58 cultures employées par l'A., tandis que son isomère, c'est-à-dire l'acide para-hydroxyle-benzoïque, se serait montré utilisable à l'oeuvre de *Bact. aerogenes*, *B. vulgare*, *B. fluorescens*, *Mycobact. phlei.*

Evidemment, la non utilisation de l'acide, de la part des cultures de M. De Jong, doit être mise en relation avec la concentration élevée, du moins par rapport à celle que l'on devait avoir dans nos liquides contenant originairement de la salicine. En effet, la quantité d'acide salicylique correspondant à 2 grammes pour mille de la salicine, est égale à gr. 0,9650 °/₀₀ et on a constaté que dans cette concentration, l'acide salicylique a été utilisé, constatation que – il y a quelques temps – l'un de nous deux avait déjà communiquée (6).

Laboratoire de Bactériologie
du R. Institut Supérieur Agraire de Pise.

---

(1) Cité par *R. E. Buchanan* et *E. Fulmer*, loc. cit.
(2) loc. cit.

DESSY G. – **La chémiothérapie des mycoses.** I.ère Partie: **Aspergillose** – I.ère Note: **Expériences " in vitro ".**

Le problème auquel se rattachent ces recherches est très vaste et important: vaste parce que les études sur ce sujet sont très peu nombreuses, et important parce que chaque jour la littérature s'enrichit de syndromes ou de cas à étiologie mycélienne.

J'exposerai dans cette première note les résultats obtenus en étudiant l'action inhibante le développement cultural et bactéricide « in vitro » d'un grand nombre de substances colorantes et de différents sels métalliques, vers quatre variétés d' « aspergillus »; « fumigatus », « flavescens », « orizae » et « niger » (1).

Les données bibliographiques sur la chémiothérapie des aspergilloses sont plutôt rares; Colas (C. R. Société de Biologie, t. LXVII, pag. 374) a observé que l'argent colloïdal, à la dose de 1 : 200000, retarde le développement des cultures de « aspergillus fumigatus », et que le mercure colloïdal, à la dilution de 1 : 285000, en empêche tout développement. Sautan (C. R. Société de Biologie, t. LXXIV, 1913, pag. 1268) a obtenu des résultats irréguliers en traitant les aspergillus fumigatus et niger avec des sels d'or et d'argent, tandis qu'Agulhon et Sazerac (Bull. Société Chimique, t. III, 1912, pag. 868) ont observé que l'acétate d'uranile n'a aucune action sur l'aspergillus niger, et que le zinc peut retarder et empêcher la sporification de ce mycète. Lode (Archiv. für Hygiene. 1902, t. XLII) fait remarquer que le sublimé semble tuer les spores de l'aspergillus fumigatus, dans l'espace d'1 heure à la dilution de 1 : 1000; Raulin (Annales des Sciences Naturelles, 1869, vol. XI, série V) a observé que les capsules d'argent, contenant le terrain de culture, empêchent à l'aspergillus niger de se développer: Bornand (Centr. für Bakt., 1913, t. XXXIX) met en évidence que les capsules de mercure, de plomb, de cuivre, de zinc et de nikel ont la même action.

Je vais décrire ici, synthétiquement, les résultats de mes recherches.

Pouvoir d'inhibition du developpement cultural.

Substances colorantes. — L'action inhibante le développement des cultures était contrôlée, au cours de ces expériences, en ajoutant au milieu (bouillon malt) des quantités progressives de la couleur à étudier. On ajoutait la couleur au bouillon stérile et on stérilisait encore le tout à

(1) Plusieurs AA. font une différence entre le « genus aspergillus » et le « genus sterigmatocystis » et comprennent le « niger » dans ce dernier groupe.

la vapeur fluente pendant 10 minutes. On se servit d'incubatrices Pasteur, car elles présentent l'avantage de rendre moindre l'évaporation du liquide qui y est renfermé. La couleur étant ajoutée au bouillon de façon à avoir les dilutions suivantes; 1 : 500, 1 : 1000, 1 : 2000, 1 : 5000, 1 : 10000, 1 : 20000, 1 : 40000, 1 : 100.000. On établissait des contrôles en ajoutant au bouillon malt de l'eau distillé en quantités correspondantes à la quantité « maxima » de solution colorante employée. Les ensemencements étaient fait d'après des cultures en agar malt de 7 jours, bien sporifiées. Huit jours après on lisait les résultats.

Les chiffres ci-dessus indiquent la dilution de la substance colorante qui empêche tout développement des germes.

Groupe du tryphénylméthane.

Violet cristal (Grübler): Asp. fumigatus, flavescens, orizae, niger 1 : 40000

Vert brillant (Meister Lucius): Asp. fumigatus, flavescens, orizae, niger 1 : 40000.

Vert de malachite (Grübler): Asp. fumigatus, flavescens, orizae, niger 1 : 40000.

Violet de méthyle (Grübler): Asperg. fumigatus, flavescens, orizae, niger 1 : 40000.

Dahlia (Grübler): Asp. fumigatus 1 : 2000; asp. flavescens 1 : 2000; asper orizae et niger 1 : 10000.

Bleu Victoria (Prato): Asp. fumigatus et flavescens 1 : 5000; asp. orizae et niger 1 : 10000.

Violet de Gentiane (Grübler): Asp. fumigatus 1 : 500; asp. flavescens 1 : 1000; asp. orizae et niger 1 : 5000.

Vert de méthyle (Grübler): Asp. fumigatus: aucune inhibition; asp. flavescens 1 : 1000; asp. orizae 1 : 2000; asp. niger 1 : 1000.

Bleu Patent A. (Prato): Asp. fumigatus et flavescens: aucune inhibition; asp. orizae 1 : 2000; asp. niger 1 : 1000;

Vert iode (Grübler): Asp. fumigatus: aucune inhibition: asp. flavescens, orizae et niger 1 : 500.

Les couleurs suivantes du même groupe ont démontré de ne posséder aucune action: Bleu d'aniline (Grübler) Violet de crésyl (Grübler), Fuchsine (Meister Lucius), Bleu de méthyle (Erba) Bleu Lyon (Grübler), Bleu Cotton (Grübler), Vert lumière (Grübler), Crésofuchsine (Grübler).

Groupe de azines.

Safranine (Erba): Asp. fumigatus et flavescens: aucune inhibition; asp. orizae et niger 1 : 500.

Les couleurs suivantes du même groupe ont démontré de ne posséder aucune action: Violet de méthylène (Grübler). Rouge neutre (R.A.L.), Induline (Grübler), Rouge de Magdala (Grübler).

Groupe des azodérivés.

Pas une des couleurs suivantes, appartenent à ce groupe, ne s'est démontrée active: Vésuvine (Meister Lucius), Bleu brilliant Congo (Prato), Erica (Prato), Vert acide (Meister Lucius), Chrysophénine (Prato), Écarlate solide diammine (Prato), Crocéine brillante (Prato).

Groupe des thiazines.

Bleu de méthylène (Grübler): Asp. fumigatus et flavescens: aucune inhibition; asp. orizae et niger 1 : 1000.

Thionine (Grübler): Asp. fumigatus 1 : 500; asp. flavescens; orizae et niger aucune inhibition.

Bleu de toluidine (Grübler): aucune inhibition.

Groupe du thiazol.

La Primolina (Prato) et le Jaune thiazol (Prato) n'ont aucune action.

Groupe des phtaleïnes ou du pyrone.

Rhodamine G. (Prato): Asp. fumigatus, flavescens, orizae; aucune action: asp. niger 1 : 500.

Les autres couleurs, telles que la Rhodamine S. (Prato), l'Eosine B. (Grübler), Rosamine acide A. (Prato), n'ont eu aucune action.

Groupe de l'Anthraquinone ou de l'Anthracène.

Bleu d'alizarine (Grübler): Asp. fumigatus 1 : 20000; asp. orizae 1: 10000; asp. flavescens et niger 1 : 2000.

Alizarine viridine (Prato): aucune action.

Groupe des oxyazines.

Le Bleu Capri (Prato), le Bleu brillant Crésil (Grübler) et l'Aurantia (Prato), n'ont aucune action.

Groupe de l'acridine.

La Phosphine (Prato) n'a aucune action.

Groupe du Diphénylméthane.

L'Auranine (Prato) et l'Orceïne (Grübler) n'ont aucune action.

Groupe des colorants derivés de l'indigo.

L'Indigo Carmin (Grübler) n'a aucune action.

D'autres colorants se sont aussi démontrés inactifs: tels la Jaune de Pioktanine (Grübler), le Trypanblau (Meister Lucius), le Rouge Carmin (Grübler).

D'autres colorants, à des fortes concentrations, ont retardé et même limité le développement des germes: en général ils empéchaient ou retardaient beaucoup la sporification.

Métaux. — La technique suivie au cours de ces expériences a été la même que celle décrite pour les substances colorantes. Les pourcentages des dilutions ont été calculés par poids du métal et non par poids du sel. Les chiffres entre parenthèse indiquent donc, la quantité en grammes du sel correspondant à 1 gramme de métal.

Cuivre.

Sulfate de cuivre (gr. 3,82): Asp. fumigatus et flavescens 1 : 5000: asp. orizae 1 : 2000; asp. niger 1 : 1000;

Chlorure de cuivre (gr. 2,52): Asp. fumigatus et orizae 1 : 5000; asp. flavescens et niger 1 : 2000.

Acétate de cuivre (gr. 2,49): Asp. fumigatus, flavescens et orizae 1 : 2000; asp. niger 1 : 1000.

Zinc.

Sulfate de zinc (gr. 2,74): Asp. niger 1 : 1000.

Acétate de zinc (gr. 2,40): Asp. niger 1 : 1000.

Nickel.

Sulfate de nickel (gr. 4,79): Asp. fumigatus et niger 1 : 2000; asp. flavescens 1 : 1000; asp. orizae 1 : 10000.

Chlorure de nickel (gr. 4,04): Asp. fumigatus et flavescens 1 : 2000; asp. orizae et niger 1 : 5000.

Cobalt.

Chlorure de cobalt (gr. 4,04): Asp. fumigatus et flavescens 1 : 500; asp. orizae 1 : 2000; asp. niger 1 : 5000.

Nitrate de cobalt (gr. 4,90): Asp. fumigatus et orizae 1 : 1000; asp. flavescens 1 : 500; asp. niger 1 : 5000.

Or.

Chlorure d'or (gr. 1,9): aucune action.

Sulfocrisol (4,00): Asp. fumigatus et niger 1 : 500; asp. flavescens et orizae 1 : 1000.

Alluminium.

Sulfate d'alluminium (12,3): Asp. fumigatus: aucune inhibition; asp. flavescens 1 : 5000; asp. orizae 1 : 10000; asp. niger 1 : 1000.

Chlorure d'aluminium (gr. 8,9): Asp. fumigatus 1 : 1000; asp. flavescens 1 : 5000; asp. orizae: 1 : 10000; asp. niger 1 : 2000.

Baryum.

Chlorure de baryum (gr. 1,64): aucune action.

Nitrate de baryum (gr. 1,9): aucune action.

Cadmium.

Chlorure de cadmium (gr. 1,95): Asp. fumigatus 1 : 40000; asp. flavescens, orizae et niger 1 : 100000.

Nitrate de cadmium (gr. 2,75): Asp. fumigatus 1 : 40000; asp. flavescens orizae et niger 1 : 100000.

Molybdène.

Molybdate d'ammonium (gr. 1,9): aucune action.

Uranium.

Acétate d'uranium (gr. 1,7): aucune action.

Cérium.

Nitrate de cérium (gr. 3,10): Asp. fumigatus et niger 1 : 500; asp. flavescens et orizae 1 : 1000.

Jode.

Iodure de potassium (gr. 1,30): aucune action.

Iode métallique (en jodure de potassium): aucune action.

Mercure.

Bichlorure de mercure (gr. 1,35): Asp. fumigatus, flavescens, orizae et niger 1 : 2000.

Cyanure mercurique (1,26): Asp. fumigatus, flavescens, orizae et niger 1 : 20000.

Certains métaux n'ayant aucun pouvoir d'inhibition on tout de même limité et retardé le développement des aspergilles: le plus grand nombre ont, en tous cas, empêché ou retardé la sporification.

Les métaux possédant une forte activité ont démontré une unité d'action vers les différentes espèces d'aspergilles: ceux ayant une activité moins prononcée se sont comportés d'une façon tout à fait irrégulière.

Pouvoir bactéricide.

L'étude du pouvoir bactéricide « in vitro » fut faite en suivant la technique suivante; on introduisait la substance colorante, diluée dans les proportions voulues avec de l'eau distillée, dans des éprouvettes à centrifuge stériles, et ensuite on stérilisait nouvellement à la vapeur fluente pendant 10 minutes. On ajoutait ensuite, stérilement, dans chaque éprouvette, les mêmes quantités d'émulsion d'aspergillus, provenantes de cultures sur agar.

Après l'avoir laissé pendant un certain temps au thermostate, on centrifugeait soigneusement le contenu des éprouvettes, de façon à ce que les germes se déposassent sur le fond. Après l'avoir lavé deux fois avec de l'eau distillée stérile, on semait abondamment la partie centrifugée sur de l'agar malt.

La dilution des couleurs dont on se servit furent les suivantes: 1 : 100, 1 : 200, 1 : 500, 1 : 1000. Les périodes de temps de contact furent: 15', 60', 6 heures, 18 heures, 24 heures.

Les contrôles faits simplement avec de l'eau distillée étaient soumis aux mêmes traitements. On faisait deux épreuves pour chaque souche d'aspergillus: avec spores et avec mycélium seul.

Les mycéliums asporigènes étaient obtenus d'après des cultures en bouillon ordinaire, de 18 heures: les spores d'après des cultures de 6 jours sur agar malt.

Les chiffres que nous reportons ci-dessous indiquent les dilutions et les temps limites: la lecture des résultats était faite 5 jours après l'ensemencement.

Voici en schéma les données obtenues.

Groupe du triphénylméthane.

Cristalviolet (Grübler): Asp. fumigatus (spores): aucune action; (mycélium) 1 : 500 après 6 heures, 1 : 1000 après 24 heures; asp. flavescens (spores): aucune action; (mycelium) 1 : 1000 après 60'; asp. orizae (spores) 1 : 1000 après 6 heures; (mycélium) 1 : 1000 après 60'; asp. niger (spores): aucune action; (mycelium): 1 : 1000 après 60'.

Vert brillant (Meister Lucius): Asp. fumigatus (spores) 1 : 200 après 60' et 1 : 500 après 18 heures; (mycélium) 1 : 200 après 60' et 1 : 1000 après 24 heures: asp. flavescens (spores) 1 : 200 après 60' et 1 : 500 après 24 heures; (mycélium) 1 : 200 après 60' et 1 : 1000 après 24 heures; asp. orizae (spores) 1 : 1000 après 24 heures; (mycelium) 1:200 après 60' et 1:1000 après 18 heures; asp. niger (spores) 1:200 après 60' et 1 : 1000 après 18 heures; (mycélium) 1 : 200 après 60' et 1 : 1000 après 6 heures.

Vert de malachite (Grübler): Asp. fumigatus (spores) 1 : 200 après 60' et 1 : 500 après 6 heures; (mycélium) 1 : 500 après 60' et 1 : 1000 après 18 heures; asp. flavescens (spores) 1 : 200 après 60' et 1 : 500 après 6 heures (mycélium) 1 : 500 après 60' et 1 : 1000 après 24 heures: asp. orizae (spores) 1 : 200 après 60' et 1 : 500 après 6 heures; (mycélium) 1 : 500 après 60' et 1 : 1000 après 18 heures; asp. niger (spores) 1 : 200 après 60' et 1 : 1000 après 18 heures: (mycélium) 1 : 200 après 60' et 1 : 500 après 6 heures.

Violet de méthyle (Grübler): Asp. fumigatus (spores): aucune action; (mycélium) 1 : 500 après 6 heures; asp. flavescens: idem; asp. orizae (spores) 1 : 1000 après 24 heures; (mycélium) 1 : 500 après 6 heures; asp. niger (spores): aucune action; (mycelium) 1 : 500 après 6 heures.

Dahlia (Grübler): asp. fumigatus (spores) 1 : 100 après 24 heures; asp. flavescens (spores) 1 : 100 après 24 heures (mycelium) 1 : 1000 après 18 heures; asp. orizae (spores) 1 : 100 après 18 heures (mycelium) 1 : 1000 après 18 heures: asp. niger (spores): aucune action (mycelium) 1 : 100 après 60' et 1 : 1000 après 6 heures.

Bleu Victoria (Prato): Asp. fumigatus (spores): aucune action, (mycélium) 1 : 500 après 24 heures; asp. flavescens: idem; asp. orizae (spores) 1 : 100 après 24 heures; (mycelium) 1 : 500 après 18 heures; asp. niger (spores): aucune action; (mycélium) 1 :500 aprés 24 h.

Violet de Gentiane (Grübler): Asp. fumigatus: aucune action: asp. flavescens (spores): aucune action; (mycelium) 1 : 500 après 24 heures; asp. orizae (spores) 1 : 100 après 24 heures; (mycelium) 1 : 500 après 18 heures; asp. niger (spores): aucune action; (mycélium) 1 : 500 après 24 heures.

Vert de méthyle (Grübler): Asp. fumigatus: aucune action; asp. flavescens: aucune action; asp. orizae (spores): aucune action; (mycélium) 1 : 500 après 18 heures; asp. niger (spores) aucune action; (mycélium) 1 : 500 après 24 heures.

Bleu Patent A. (Prato): asp. fumigatus: aucune action: asp. flavescens: aucune action; asp. orizae (spores): aucune action; (mycélium) 1 : 500 après 24 heures; asp. niger: aucune action.

Les couleurs ci-dessous, appartenant au même groupe, n'ont aucune activité: Vert iode, bleu d'aniline, violet de crésil, fuchsine, bleu de méthylène, bleu Lyon, bleu cotton, vert lumière, Crésofuchsine.

Groupe des azine.

Les couleurs suivantes n'ont aucune activité bactéricide: safranine, violet de méthylène, rouge neutre, induline, rouge de Magdala.

Groupe des azo-dérivés.

Aucune des couleurs appartenant à ce groupe ne possède une activité bactéridicide: vésuvine, bleu brillant Congo, erica, vert acide, Chrysophénine, Ecarlate solide diammine, Croceine brillante.

Groupe des thiazines.

Bleu de méthylène (Grübler): Asp. fumigatus: aucune action; asp. flavescens: aucune action; asp. orizae (spores): aucune action; (mycélium) 1 : 100 après 18 heures; asp. niger: aucune action, La Thionine et le bleu de toluidine, appartenant à ce groupe se sont démontrés inactifs.

Groupe du thiazol.

La Primuline et le Jaune Thiasol se sont demontrés inactifs.

Groupe des phtaléines ou du pyrone.

La Rhodamine G, la Rhodamine S, l'Eosine B, et la Rosamine acide A n'ont aucune action.

Groupe de l'Anthraquinone ou de l'Anthracène.

Bleu d'alizarine (Grübler): Asp. fumigatus (spores) 1 : 200 en 6 heures et 1 : 500 en 18 heures; (mycélium) 1 : 200 en 60' et 1 : 1000 en 18 heures; asp. flavescens (spores) 1 : 100 en 24 heures; (mycélium) 1 : 500 en 6 heures et 1 : 1000 en 24 heures; asp. orizae (spores) 1 : 200 en 6 heures et 1 : 1000 en 18 heures; (mycélium) 1 : 100 en 60' et 1 : 500 en 18 heures; asp. niger (spores) 1 : 100 en 24 heures (mycelium) 1 : 500 en 18 heures.

L'Alizarine viridine ne démontre aucune action.

Groupe des oxyazines.

Le bleu Capri, le bleu brillant crésil, et l'aurantia n'ont aucune action.

Groupe de l'Acridine.

La phosphine n'a aucune action.

Groupe du Diphénylméthane.

L'auramine et l'orceïne n'ont aucune action.

Griupe des colorants indigoïdes.

L'indigo carmin n'a aucune action.

Le jaune de pioktanine, le trypanblau et le rouge carmin sont pareillement sans action.

MÉTAUX. — Ces expériences ont été faites en suivant la même technique employée pour les substances colorantes. Les pourcentages indiqués se rapportent au poids du métal contenu dans les différents sels.

Cuivre.

Sulfate de Cuivre: Asp. fumigatus: aucune action; asp. flavescens: aucune action; asp. orizae (spores), aucune action; (mycélium) 1 : 200 en 6 heures et 1 : 1000 en 24 heures; asp. niger (spores): aucune action (mycélium) 1 : 100 en 6 heures et 1 : 1000 en 24 heures.

Chlorure de Cuivre: Asp. fumigatus: aucune action; asp. flavescens: aucune action; asp. orizae (spores) 1 : 200 en 6 heures et 1 : 500 en 18 heures; (mycélium) 1 : 200 en 6 heures et 1 : 1000 en 24 heures; asp. niger: aucune action.

Acétate de Cuivre: Asp. fumigatus: aucune action; asp. flavescens: aucune action; asp. orizae (spores): aucune action; (mycélium) 1 : 1000 après 24 heures; asp. niger: aucune action.

Zinc.

Sulfate de zinc: aucune action bactéricide tant sur les spores que sur les myccéliums.

Acétate de zinc: même résultat.

Nickel.

Sulfate de Nickel: aucune action sur les spores. Mycélium; asp. orizae 1 : 500 après 18 heures et 1 : 1000 après 24 heures.

Chlorure de Nickel: aucune action.

Cobalt.

Chlorure de cobalt: aucune action.

Nitrate de cobalt: aucune action sur les spores. Mycélium; asp. fumigatus 1 : 100 après 24 heures; asp. flavescens: aucune action; asp. orizae 1 : 100 après 24 heures; asp. niger 1 : 500 après 24 heurs.

Or.

Chlorure d'or: aucune action.

Sulfocrisol: aucune action.

Alluminium.

Sulfate d'alluminium: aucune action sur les spores. Mycelium; asp. orizae 1 : 500 après 18 heures et 1 : 1000 après 24 heures.

Chlorure d'alluminium: même résultat.

Baryum.

Chlorure de Barym: aucune action.
Nitrate de Barym: aucune action.

Cadmium.

Chlorure de Cadmium: aucune action sur les spores. Mycélium; asp. fumigatus 1 : 100 après 24 heures; asp. flavescens, orizae et niger 1 : 500 après 24 heures.

Nitrate de Cadmium: Asp. fumigatus (spores): aucune action; mycélium) 1 : 100 après 24 heures; asp. flavescens (spores) 1 : 200 après 24 heures; (mycélium) 1 : 100 en 6 heures et 1 : 1000 en 24 heures; asp. orizae (spores) 1 : 100 après 18 heures et 1 : 200 en 24 heures; asp. niger (spores) 1 : 200 après 24 heures; (mycélium) 1 : 100 après 6 heures et 1 : 500 après 24 heures.

Molybdène.

Molybdate d'ammonium: aucune action.

Uranium.

Acétate d'uranium: aucune action.

Cérium.

Nitrate de cérium: aucune action.
Nitrate de cérium: aucune action.

Iode.

Jodure de potassium: aucune action.
Iode metallique (en iodure de potassium): aucune action.

Mercure.

Cyanure de mercure: Asp. fumigatus: (spores) 1 : 200 après 6 heures et 1 :500 après 18 heures; (mycélium) 1 :1 :200 après 6 heures et 1 :1000 après 18 heures; asp. flavescens (spores): 1 : 200 après 6 heures et 1 : 500 après 18 heures; (mycélium) 1 : 200 après 1 heure et 1 : 1000 après 18 heures; asp. orizae (spores) 1 : 100 après 6 heures 1 : 500 après 24 heures; (mycélium) 1 : 200 après 6 heures et 1 : 500 après 18 h.: asp. niger (spores) 1 : 200 après 18 heures; (mycélium) 1: 200 après 18 heures et 1 : 500 après 24 heures.

Bichlorure de mercure: Asp. fumigatus (spores) 1 : 1000 après 6 heures; (mycélium) 1 : 1000 après 1 heure; asp. flavescens (spores) 1 : 500 après 1 heure; (mycélium) 1 : 1000 après 1 heure; asp. orizae et asp. niger (spores) 1 : 500 après 1 heure; (mycélium) 1 : 1000 après une heure.

En résumant: l'action bactéricide « in vitro » des différents sels metalliques dont je me suis servi n'est pas très prononcée: on remarque, en effet, que le mercure seul possède une certaine activité tant sur les spores qur sur le mycélium.

Conclusions générales

Nous avons étudié le pouvoir d'inhibition sur le développement cultural, et le pouvoir bactéricide (celui-ci vers les spores et vers le mycélium) « in vitro », de 51 substances colorantes et de 24 sels métalliques, sur les mycètes du genus aspergillus: fumigatus, niger, flavescens, orizae.

Les substances colorantes qui possédent un pouvoir d'inhibition actif sur le développement des cultures sont les suivantes: Cristalviolet (1: 40000), Vert brillant (1: 40000) Vert de malachite (1:40000); violet de méthyle (1: 40000), Bleu Victoria (1 : 5000 — 1 : 10000), toutes appartenant au groupe du triphénylméthane et le bleu d'alizarine (1: 2000–1: 10000–1: 20000) du groupe de l'anthraquinone; parmi les sels métalliques les plus actifs sont: le Chlorure de cadmium (1 : 40000—1 : 100000), le Nitrate de Cadmium (1 : 40000—1 : 100000), le Cyanure de Mercure (1 : 20000), le Chlorure d'alluminium et le sulfate d'alluminium (1 : 1000—1 : 10000), le Sulfate de cuivre (1 : 1000—1 : 5000) le Chlorure de cuivre (1 : 2000—1 : 5000), le Sulfate de Nickel (1 : 1000—1 : 10000), le Chlorure de Nickel (1 : 2000—1 : 5000), le Chlorure de Cobalt et le nitrate de cobalt (1 : 500—1 : 5000).

Les substances ayant un povoir d'inhibition très prononcé sur le développement des cultures ont agi d'une façon uniforme vers les différentes espèces d'aspergillus.

L'étude du pouvoir « in vitro » a démontré que les substances colorantes qui empêchent le développement des cultures, sont donées d'un pouvoir assez prononcé tant vers les spores que vers le mycélium: parmi les sels métalliques ce ne sont que le cyanure de mercure et la bichlorure de mercure qui ont démontré de posséder une certaine activité.

Dans la prochaine communication nous traiterons de l'action chémiothérapique « in vivo » des substances qui ont démontré d'être actives « in vitro ».

Institut Sérothérapique de Milan – Laboratoires Scientifiques de la Direction.

TROSSARELLI L. – **Récherches biologiques sur la micobacterie du tubercule.**

L'A. s'est proposé le but d'étudier l'action de l'acide sulphurique et de la soude sur les crachats des phtisiques pour pouvoir ensuite étudier les caractères culturaux et biologiques du micobacterie du tubercule présent dans ces matériaux.

Il s'est donc servi d'expectorations surement positives pour la micobactérie du tubercule: comme terrain de culture il a adopté celui de Petragnani au vert de malachite.

Les expériences furent faites de la façon suivante: dans une petite fiole stérile à large embouchure contenant des petites perles en verre on introduisait 15 cc. à peu près d'expectoration qu'on rendait bien homogène en agitant soigneusement. On l'aspirait ensuite avec une pipette stérile et on l'introduisait dans six petits flacons pareillement stériles et a large embouchure, contenants des petites perles en verre et respectivement 8 cc. de solution d'acide sulphurique au 2%, au 15% et au 30% et d'hydrate de sodium au 2%, au 10% et au 20%. On laissait l'acide et l'alcali en contact avec les expectorations à la température de l'ambiant en agitant de temps en temps les flacons: après un laps de temps de 50 minutes on prélevait 8 cc. du mélange que l'on centrifugait à grande vitesse pendante 10'; on décantait le liquide surnageant et semait le matériel dans 12 tubes de Petragani en passant, sur chaque terrain, pour deux fois, le fil de platine.

Après avoir laissé au thermostate pendant 20-25 jours, à 37°, on obtenait, en général, le développement de la micobactérie du tubercule en culture pure: on transplantait ensuite les cultures sur du terrain de Petragnani. Au 21e jour on inoculait ces cultures, en raison de 2 mm., à des cobayes.

Sur 73 crachats pour lesquels on avait contrôlé microscopiquement la présence de la microbactérie du tubercule, seulement 46 cas ont donné lieu au développement de colonies après avoir été traités avec l'acide sulphurique et avec l'hydrate de sodium; ce sont:

a) 13 cas qui ont résisté au traitement soit avec l'acide soit avec l'alcali;

b) 12 cas qui n'ont résisté qu'à l'alcali;

c) 21 cas qui n'ont resisté qu'à l'acide.

Les micobactéries du tubercule qui se sont développées en culture après le traitement avec les solutions d' H_2SO_4 et de Na OH possédaient toutes un degré de virulence très marqué et tuaient les cobayes dans un

laps de temps variable entre 12 et 46 jours après l'inoculation, avec une moyenne de 20 jours.

Ce n'est que pour trois cas qu'on ne put observer aucune lésion sur les cobayes, trois mois après l'inoculation.

Ayant ainsi constaté le comportement des expectorations traitées avec des solutions d' H_2SO_4 et de Na OH, et leur virulence avec l'épreuve biologique, il a semblé bon à l'A. de répéter ces recherches avec d'autres matériaux, mais en inoculant avant de faire les expériences, 2 cc. d'expectoration telle qu'on la prélevait au malade, pour pouvoir ensuite comparer la virulence des expectorations originales avec la virulence des cultures obtenues d'après les mêmes expectorations traitées avec les solutions d' H_2SO_4 et de Na OH.

Sur 32 crachats positifs pour la microbactérie du tubercule, 22 cas ont donné lieu au développement de colonies, après avoir été traités avec les solutions d' H_2SO_4 et de Na OH; les voici:

a) 11 cas ont résisté au traitement soit à l'acide soit à l'alcali;

b) 7 cas n'ont résisté qu'à l'alcali;

c) 4 cas n'ont résisté qu'à l'acide.

En comparant les moyennes de la mortalité des animaux traités directement avec les expectorations et de ceux traités avec la culture qui s'est développée des expectorations préalablement traitées avec l'acide ou avec l'alcali, on constate que les premiers ont succombé plus rapidement que les seconds.

L'A. conclue donc, en se fondant sur ces recherches, que dans l'expectoration d'un sujet phtisique on trouve des souches acido – et alcali-résistantes, et d'autres qui ne sont qu'acido – ou seulement alcali résistantes: pour l'isolement en culture de la micobactérie du tubercule il semble donc être le cas de faire subir au matériel suspect le double traitemente à l'acide et, respectivement à l'alcali.

Institut de Bactériologie et d'Immunologie
de l'Université Royale de Turin.

PIRAZZINI R. – **Recherches culturales du bacille de Koch sur le pus d'abcès froids.**

RECHERCHES CULTURALES DU B. DE KOCH AVEC DU PUS D'ABCÈS FROIDS.

La vulgarisation des méthodes de culture du bacille de Koch due à *Petroff*, *Kahlfeld* et *Wahlich*, *Hohn* et surtout à *Petragnani* a mis, ces dernières années, à la portée du plus modeste laboratoire, un problème qui présentait auparavant de sérieuses difficultés.

On a de nombreux travaux sur ce sujet, et tous concordent pour affirmer que, diagnostiquement, la méthode culturale est supérieure à l'épreuve biologique sur les cobayes. Les raisons à l'appui sont nombreuses, et la plus importante est que la culture donne une réponse plus rapidement que l'inoculation biologique.

Le grand nombre de recherches que l'on a faites à ce sujet regardent surtout l'ensemencement de matériaux entr'autre spécialement de l'expectoration, des essudats, des urines, du « liquor meningeus », etc.

Quelques AA. ne parlent qu'incidemment de cultures de pus d'abcès froids, et réunissent les données ainsi obtenues à celles, beaucoup plus nombreuses, fournies par l'ensemencement d'autres matériaux. Le fait que ces recherches culturales sur le pus d'abcès froids ne sont pas nombreuses, est dû à la difficulté qu'il y a pour avoir à disposition une forte quantité de ce matériel.

Etant assistant à un Institut Héliothérapique Marin pour la cure de la t. b. c. des os il m'a été possible de faire des recherches exclusivement sur le matériel de ce type.

Pour ces recherches culturales je me suis servi, comme producteurs de pus, de cas de t. b. c. des os présentant des abcès oxofluents fermés, n'étant donc probablement pas encore souillés, par d'autres germes. Dans le pus coulant des lésions fistuleuses on rencontre notamment une grande variété de germes; et si l'épreuve positive pour le bacille de Koch est déjà rare dans les frottis de pus d'abcès non encore fistulisés, pour les cas précédents la recherche microscopique n'est qu'exceptionnellement positive, tandis que la flore d'autres bactéries y est très riche. De toutes façons la culture faite pour ces cas serait aussi d'un grand intêret.

Après avoir prélevé le matériel par aspiration, j'ai systématiquement fait la recherche du bacille de Koch, soit en faisant en même temps des cultures sur le terrain de Hohn et sur celui de Petragnani, soit microscopiquement sur des frottis colorés par la méthode de Ziehl.

Les terrains étaient préparés en suivant la méthode des AA. On procédait de même pour rendre homogènes les matériaux à étudier.

Les cas que j'ai étudiés sont au nombre de 23. Je pourrais en ajouter d'autres, mais ils sont incomplets car une des trois données (culture sur terrain de Hohn, culture sur terrain de Petragnani, examen microscopique des frottis) leur fait défaut. Je n'en parlerai donc pas, en attendant de les compléter.

N.º	Diagnostic clinique	Examen microscopique	Examen cultural sur Petragnani	Hohn
1.	Spondylite lombaire avec abcès à la fosse iliaque droise	négatif	positif	positif
2.	Spondylite lombaire avec abcès à la fosse iliaque gauche	»	»	»
3.	Tubercolose des os multiple avec de nombreux abcès	positif	»	»
4.	Spondylite dorsale avec abcès aux triangle de Scarpa de droite	négatif	»	»
5.	Coxite gauche avec abcès péri-articulaire	»	»	»
6.	Spondylite lombo-sacrale avec abcès à la cuisse droite	»	négatif	négatif
7.	Gonilite gauche	»	positif	positif
8.	Carie de la crête iliaque droite	»	»	»
9.	Spondylite lombaire avec abcès aux fosses iliaque de gauche et de droite	»	»	»
10.	Sacroiléite gauche avec abcès à la région glutéenne gauche	»	»	négatif
11.	Spondylite dorsale avec abcès à la région lombaire gauche	»	»	positif
12.	Ostéoarthrite au coude gauche avec abcès péri-articulaire	positif	»	»
13.	Ostéoarthrite tibio-tarsienne et inter-tarsienne	négatif	»	négatif
14.	Spondylite cervicale avec abcès paravertébral	»	»	positif
15.	Carie costale avec abcès « in loco »	»	»	»
16.	Foyers de carie sub-chondrique avec abcès lombaire à droite	»	»	»
17.	Spondylite lombaire avec abcès lombaire à droite	négatif	négatif	négatif
18.	Foyers multiples articulaires	positif	positif	positif
19.	Ostéite du sternum avec abcès « in loco »	négatif	»	»
20.	Ostéoarthrite spongieuse au genoux gauche avec déform. articul.	»	»	»
21.	Foyer de carie au pubis avec abcès pubien	»	négatif	négatif
22.	Spondylite lombaire avec abcès à la fosse iliaque gauche	»	positif	positif
23.	Gonilite droite	»	»	négatif
	Total positifs	3	20	17
	Total négatifs	20	3	6

Comme je l'ai fait remarquer, les frottis examinés avec le plus grand soin, ne se sont révélés que rarement positifs. Les cultures, au lieu, ont presque toutes été positives. À propos des cas, vraiment peu nombreux, pour les quels elles ont été négatives sur les deux terrains, il faut faire remarquer qu'il était question d'abcès déjà anciens, qui avaient été aspirés plusieurs fois. (Pour l'un de ces cas on sema du pus à sa 72e aspi-

ration). Les frottis, bien qu'on n'eut point de symptômes d'un processus aigu, ont révélés, en ces cas, la présence d'autres germes, probablement à l'état de saprophytes.

J'ai aussi observé que les cultures faites selon la méthode de Petragnani, se développaient plus rapidement, si bien que l'on pouvait en démontrer microscopiquement la présence au 5ème ou au 6ème jour; après 7, ou 9 jours on les apercevait nettement à l'oeil nu sous forme de petits grains opaques couleur noisette à surface rugueuse. Avec le terrain de Hohn ces cultures retardaient en général de 24 heures.

Bien que le nombre des cas étudiés ne permette pas de tirer des déductions définitives, en comparant les résultats obtenus avec les deux terrains on observe que le terrain de Petragnani est le plus sensible, car les résultats positifs y sont relativement plus nombreux et plus précoces.

Bien que dans les cas que j'ai étudiés il n'y eut aucun doute à propos du diagnostic clinique, car je pouvais toujours me servir de l'examen radiographique, il est évident que la recherche culturale peut être d'une grande utilité dans les cas incertains.

Résumé. – L'A. a cultivé 23 échantillons de pus, extrait par aspiration des abcès froids, sur les terrains de Hohn et de Petragnani. Il fait remarquer que cette recherche de laboratoire est très utile pour le diagnostic de nature, car l'examen microscopique des frottis est presque toujours négatif: en outre il a observé que le terrain de Petragnani est, relativement, le plus sensible, car on a obtenu, en cultivant de cette façon, des résultats positif plus nombreux et plus précoces.

Istituto Elioterapico, chirurgico, ortopedico,
Vittorio Emanuele III – Arma di Taggia.

BIBLIOGRAPHIE.

Accorimboni, « Rivista di patologia e clinica della tubercolosi », IV. année, fasc. III.
Callerio, « Bollettino della Soc. Medico-chirurgica de Pavie », année 1930, fasc. IV.
Castelli, « Bollettino Ist. Sieroterapico Milanese », année 1928, fasc. XI.
Engel, « Deutsch. Med. Wochenschr. », année 1927, N. 24.
Hohn, « Zentralblatt f. Bacteriol. », Bd. 98, pag. 1001.
— « Mûnchener Med. Woch. », année 1926, N. 15.
Kahefeld et *Walich*, reporté par Callerio sur le « Boll. Soc. Med. Chir. Pavia », année 1930, fasc. 2.
Lang, « Bollettino Istituto Sieroterapico Milano », année 1928, fasc. VI.
Petragnani, « Lo Sperimentale », année 1923, fasc. 1 et 2.
— « Bollettino Istituto Sieroterapico Milanese », année 1926, fasc. 3.
— « Policlinico », Sez. pratica, année 1928, fasc. 27.
Petroff, « Ann. Institut Pasteur », année 1921, pag. 585.
Roloff, « Zeitschrift f. Tuberk. », année 1928, Bd. 52, pag. 153.
Spengler, « Zeitschrift f. Hyg. », année 1903, Bd. 42, pag. 90.
Sutterlin, « Münchener Med. Woch. », année 1927, N. 28, pag. 1180.
Verdina, « Rivista di Patol. e Clin. della Tubercolosi », année 1929, fasc. III.

BABONI NINO – **Nouvelles études et nouvelles recherches sur l'anaesotuberculines.**

Nous croyons à l'opportunité de faire précéder l'exposé de notre étude par quelques mots sur la technique de préparation de la Anaesotuberculine Finzi (A. E. T.) en tirant les éléments par la première communication de l'Auteur lui-même (1).

L'A. E. T. n'est que le même terrain liquide de culture du bacille tuberculeux (habituellement le bouillon peptoné-glycériné au 5%) filtré sur papier à filtre et traité avec de la formaline liquide du commerce, dans les proportions de 5‰.

Les bacilles tuberculeux se cultivent dans les ordinaires petits ballons, et la récolte du bouillon de culture se fait avec une pipette à bulle, en introduisant l'éxtrémité de cette dernière jusqu'au fond du petit ballon.

L'A. E. T. vient par conséquence à être épargnée du chauffage et de tout procédé de concentration.

Après la communication de Finzi, plusieurs Auteurs (2, 3, 4, 5, 6, 7) ont contrôlé l'activité de l'A. E. T. et ont écrit sur son efficacité en comparaison de la tuberculine brute.

Nous ne faisons pas de communications à ce sujet, car l'argument des recherches dont nous nous occupons est different.

A la suite des hauts et parfois très hauts pourcentages de tuberculeux révélés par l'emploi de l'A. E. T. sur tous les bovins producteurs de lait de la même étable, on avait été induit à attribuer à l'A. E. T., peut-être par excessif esprit d'autocritique, des propriétés toxiques non specifiées, c'est à dire non exclusivement dévolues à l'action de l'esotoxine du bacille tuberculeux.

En partant de cette remarque qui déjà à priori semblait exempte de toute base scientifique, après la longue expérience acquise par nous et par plusieurs autres expérimenteurs avec l'A. E. T., Finzi d'abord (8) et nous autres ensuite, nous fûmes appelés à examiner la question de la spécificité de l'A. E. T. en partant d'un plan préfixé d'études expérimentales duquel on a cherché à éliminer toutes les circostances qui, en intervenant même hypothétiquement, pouvaient ne pas rendre exactement vérifiables les résultats.

L'idée que certaines substances contenues dans le bouillon péptoné-glyceriné, le terrain classique de culture du bacille de Koch pour la préparation de la tuberculine, soient capables en passant de l'ensemble du terrain nutritif à celui de la tuberculine de fausser les résultats des preuves tuberculiniques, n'est plus récent. Koch lui-même avait craint cette possibilité et suivi par un nombre important de Savants avait conçu avec

eux de nombreuses tuberculines purifiées, desquelles étaient exclus outre les peptones et les sels, les cires et les graisses, auxquelles on attribuait particulièrement une action nocive. On a vu pourtant que si ces systèmes spéciaux de préparation sont quelquefois utiles quand on veut obtenir une tuberculine d'usage expérimental, pour des recherches de laboratoire, ou une tuberculine d'usage thérapeutique, ils ne le sont pas du tout quand on veut obtenir une tuberculine à simple emploi diagnostic.

Aujourd'hui nous pouvons affirmer qu'il n'y a presque plus personne qui puisse attribuer une réaction positive à la tuberculine brute du commerce, employée selon le procèdé classique et aux doses courantes, aux scories qui accompagnent les principes actifs du bacille tuberculeux.

Ces considérations devraient avoir autant de valeur pour la tuberculine brute que pour l'A. E. T. parce que le terrain de culture d'ou elles proviennent, est en général identique; d'ailleurs les petites variantes qui leur viennent apportées par tel ou tel Institut ne sont pas aptes à changer ce qui désormais a une large base scientifique et expérimentale. Eventuellement le doute que les produits cités puissent de quelque façon influencer la réaction à la tuberculine devrait peser en premier lieu sur la tuberculine brute, car aux doses auxquelles elle est employée, en comparaison de l'A. E. T., les résidus et dérivés du milieu initial de culture viennent s'y trouver en doses supérieures non seulement, mais la technique de préparation de l'A. E. T. en abolissant l'invétéré système du chauffage ou de concentration, pouvait déjà faire penser que si elle n'était exempte de certaines substances thermosolubles (cires et graisses) elle en contiendrait toutefois en moins grande quantité rélativement à la tuberculine brute.

Une large expérience avec l'A. E. T. retirée d'un bouillon peptoné-glyceriné, pouvait désormais nous autoriser à exclure toute importance au substances nocives citées. Cette certitude nous était démontrée indiréctement par l'observation que des chevaux traités avec de hautes doses d'A. E. T., n'ont jamais donné aucun signe de réaction thermique et seulement quand on arrivait aux doses de 50-60 cm.³ dans la veine on pouvait avoir et non toujours, une augmentation de quelques dixièmes de dégré. La même large expérience qu'en matière de A. E. T. nous possédons dans l'éspèce bovine venait encore renforcer notre certitude, en pouvant chaque jour constater que les possibilités de l'infection dans les organismes de l'espèce bovine étaient en rapport direct avec l'âge. Comment interpreter différemment que d'une action spécifique de l'A.E.T. le fait que chez les veaux nouveaux nés ou ayant quelques jours de vie on a 100% de réactions négatives tandis que le pourcentages des réactions positives augmente graduellement avec l'âge jusqu'à atteindre presque le 100% chez les bovins adultes d'élevages très contaminés? (9).

Il serait absurde de penser que ces substances hétérogènes à ce que sont les principes actifs spécifiques de l'A. E. T. puissent avoir une influence quelconque pour ce qui est le facteur âge, ou viceversa, parce que nous pourrions citer le cas de veaux de quelques mois qui réagirent positivement, et de vieux bovins véçus dans un milieu peu envahi par l'inféction tuberculeuses qui se révélèrent sains.

Un autre argument en faveur de la spécificité des réactions provoquées par l'A. E. T., nous est offert par K. Joseph (10), qui depuis longtemps déjà, prouvait que le filtré de culture à base de bouillon peptoné-glyceriné ne contient aucune substance nocive pour l'animal sain; que le formol alors puisse dénaturer si profondément les éléments naturellement non hyperthermisants du bouillon de culture semblait une chose peu probante. Pour en être convaincus d'ailleurs, les résultats négatifs d'inoculation chez les animaux sains suffisaient.

Un autre moyen démonstratif pouvait être choisi dans des terrains synthétiques oû beaucoup d'impuretés sont excluse ou reduites à des quantités minimes. On a eu recours pour cela à la préparation d'une A. E. T. par procédé Sauton (11) dans lequel le peptone est exclus, et par celui de Baudran (12) oû il est réduit à 1/5 en comparaison du bouillon peptoné glyceriné ordinaire.

Ces milieux sont jugés excellents pour favoriser le rapide développement du bacille tuberculeux; pourtant, à ce rapide et abondant développement il ne correspond pas, particulièrement pour celui de Sauton, une tuberculine également active (13). En d'autre termes, la tuberculine brute retirée des cultures normales sur bouillon peptoné glyceriné s'est démontré plus active que celle obtenue des culture sur milieux synthétiques.

Cette admise infériorité ne pouvait nous detourner du but auquel on visait car, les résultats les moins démonstratifs que l'on ait pu éventuellement obtenir n'auraient pas été en désaccord avec ce que l'on connait déjà pour la tuberculine brute préparée avec les mêmes terrains synthétiques et parce qu'on aurait atteint également de nouveaux la preuve que tout cet ensemble de substances accusées d'action nocive et qui accompagnent soit l'A. E. T. que la tuberculine brute, n'auraient mérité aucune considération dans le jugement d'une réaction diagnostique.

Il ne nous semble pas inutile de déclarer qu'ayant déjà éxpérimenté précédemment (14, 15) des anaesotuberculines obtenues des ensemensements en bouillon peptoné glyceriné de peu de jours (11-17-24 jours) et ayant pu constater à la suite d'inoculation sous-cutanée chez des bovins tuberculeux que leur activité égale celle provenant de cultures beaucoup plus anciennes, la question de savoir si les substances hétérogènes

liées aux corps microbiques et passables dans l'A. E. T. pouvait être prise en considération, subissait déjà une évidente dépréciation.

Il est évident que les substances de cire et celles adipeuses qui accompagnent les tuberculines (et auxquelles toutefois une action locale seulement est attribuée), se font d'autant plus abondantes si la culture est vieille et riche en éléments microbiens.

Pour nous mettre en condition d'équilibre expérimental avec les anaesotuberculines retirées de culture de peu de jours (11-17-24 jours) on a préparé d'abord une A. E. T. provenant d'une culture de bacille humain sur Sauton de 11-13 jours du moment oû le voile devenait visible. Cette A. E. T. inoculée aux doses de 3 c. c. et de 5 c. c. par voie sous-cutanée (voie suivie au cours de tous les essais dont nous parlerons), à un groupe de vaches, révélait 66,66% de réactions positives, avec des sauts thermiques (nullement influencés par les doses) à la température moyenne initiale oscillant de 2°-2° 4 et avec une moyenne calculée, sur les 9 réactions positives révélées, de 2° 1. Les sujets qui avec cette A. E. T. se montrèrent exempts d'infection tuberculeuse, soumis à une réinoculation, avec une A. E. T. de contrôle obtenue par bouillon peptoné glyceriné, donnaient raison à l'essai précédent.

L'A. E. T. dérivée de culture du même âge approximatif, d'une souche bovine sur bouillon peptoné glyceriné à la doses de 2 c. c. 5, donnait des réactions thermiques qui de 1° 1 montaient à 2° 3, en comparaison de la température moyenne précédente, et avec une moyenne calculée sur cinq réactions positives (sur quinze bovins inoculés) de 1° 7.

Partant de ces deux exemples de comparaison, si l'on ne peut faire de déductions de valeur absolue parce que différente est la souche bacillaire qui a servi à la préparation des deux produits, on a pourtant des éléments suffisants pour pouvoir soutenir que si, selon ce qu'affirment les auteurs, le terrain Sauton donne constamment une tuberculine moins active, l'assertion ne s'étend pas à l'A. E. T.; nous ajouterons pourtant que la souche bovine comme productrice de tuberculine avait déjà été essayée et reconnue non inferieure à celle humaine.

Toutefois si cet exemple n'était pas suffisamment démonstratif, nous pouvons déduire des éléments de comparaison plus équilibrés dans l'expérience suivante accomplie avec deux anaesotuberculines prises à la précédente souche humaine, cultivée l'une sur moyen Sauton, l'autre sur l'habituel bouillon peptoné glyceriné.

La première expérimentée sur un groupe de bovins (et ainsi que la seconde employée à la doses de 2 cm.³) révélait des écarts thermiques de 1° 3°, et avec un moyenne de 2° précis, calculée sur 9 bovins avec réaction positive; la deuxième essayée à doses égales sur un groupe équivalent de bovins donnait des réactions de 1° 4 à 2° 7 avec une moyenne

obtenue comme ci-dessus, sur 8 réactions positives identique à la précédente.

L'eloquence de ces résultats expérimentaux est en consequence plus que persuasive et entraîne à la conclusion qu'on ne note aucune différence d'activité entre l'A. E. T. obtenue par moyen Sauton ou par bouillon peptoné glyceriné. L'affirmation vaut autant pour les réactions thermiques que pour celles générales de foyer, et pour les multitudes de la sécrétion lactée.

L'observation tirée des essais cités parle en faveur de la spécificité de l'A. E. T. comme secours diagnostic dans l'infection tuberculeuse. L'A. E. T. retirée du milieu de Sauton, exempte de substances retenues capables d'action parallèle et cumulative en considération aux principes actifs specifiques du bacille de Koch, a donné encore une preuve que les réactions susceptibles d'être obtenues avec la commune A. E. T. (à base de bouillon peptoné glyceriné) sont typiquement spécifiques. Outre la nature du moyen aussi le jeune âge des cultures dont on est parti pour la préparation de l'A. E. T., parle dans le même sens: la contre preuve de la vérité de ces affirmations fut aussi donnée par le résultat des réinoculations avec l'A. E. T. obtenue par le bouillon peptoné glyceriné.

Les résultats que nous avons énoncés concordent à perfection avec ceux obtenus par G. Finzi (8) et dans l'Uraguay par H. R. Heguito, L. J. Murguia et A. Tortorella (16), avec une A. E. T. tirée du même terrain de Sauton.

L'A. E. T. obtenue par le moyenne Baudran à donné des résultats parfaitement superposables à la précédente. On sait comment Baudran (l. c.) dans la composition de son moyen a été guidé par l'étude du bilan des phosphates minéraux et organiques qui entrent dans la composition du bouillon glyceriné de culture et de la tuberculine qui en derive. Ayant remarqué une perte des premiers à l'avantage des seconds, il a pu conclure que le bacille de Koch utilise les composés inorganiques phosphorés. Ces observations constituèrent les bases de son moyen de culture, dans lequel les composés phosphorés organiques sont remplacés par les inorganiques.

Le même Baudran sur la base de la présence de traces de fer et de manganèse dans le corps microbiens du même bacille, est arrivé à la composition de deux milieux qui diffèrent seulement par le fait, que le fer de l'un est remplacé par une égale quantité de manganèse dans l'autre.

Dans nos essais expérimentaux nous avons adopté le premier répondant à la formule suivante: glycerophosphate de fer gr. 0,20; metaphosphate de soude gr. 0,5; citrate de soude gr. 2; glyceriné gr. 50; peptoné gr. 10; eau gr. 950.

Le développement du bacille d'après ce moyen est rapide et abon-

dant. Au moment de la préparation de l'A. E. T., au 24° jour du semis, la masse bacillaire recouvrait d'un voile épais, en rapport avec l'âge, le milieu nutritif inférieur. Ce produit experimenté sur un groupe de bovins a prouvé une singulière efficacité car inoculé aux doses de 2 et 4 cm.³, il a révélé 15 réactions positives sur 16 bovins (appartenant à une étable très contaminée) avec un écart thermique moyen de 2° 3.

On n'a remarqué aucune influence en rapport aux doses. L'unique sujet qui s'est montré réfractaire a eu ensuite le contrôle d'une tuberculine connue dans son activité, rétirée de bouillon glyceriné: le résultat a été aussi cette fois négatif.

Du même bacille type bovin cultivé sur bouillon péptoné glyceriné, on a préparé l'A. E. T. au 17ᵉ et au 24ᵉ jour du semis. Les résultats comparés avec les précédents, furent identiques pour l'A. E. T. d'âge inférieur, légèrement inférieurs pour l'autre; inférieur en ce sens, que la moyenne des écarts thermiques, établie toujours de la même manière, signalait 1° 9 pour la dernière, tandis que la première résultait de 2° 3. Ces différences ne peuvent s'attribuer qu'à pure casualité. Ces tuberculines furent essayées à la doses de 2,5 cm.³ sur un groupe de 34 bovins (si les doses de ces expériences et des autres de comparaison ne coïncident pas toujours à la perfection, on n'en devra pas tenir compte, car l'expérience acquise nous enseigne que même à doses inférieures au 2 cm.³ l'A. E. T. donne des réactions thermiques identiques a celles obtenues avec la même A. E. T. employée à doses bien supérieures) d'un élévage médiocrement frappé, étant donné le pourcentage de 47% de réactions positives enregistrées sur le groupe des 34 essayées. Certains des bovidés qui n'ont pas réagi au premier essai, furent soumis au contrôle d'une A. E. T. d'activité connue, dérivée de bouillon péptoné. Le résultat fût dans tous les cas conforme à celui du premier essai.

Nous avons attaché une particulière attention à réinoculer les bovins qui se révélaient sains avec des anaesotuberculines obtenues des terrains synthétiques, avec des anaesotuberculines actives retirées de bouillon glycériné. Les résultats coincidèrent toujours.

L'observation n'est pas négligeable car elle vient prouver que les composant du bouillon glycériné passés a travers les modifications apportées par le bacille tuberculeux, et éventuellement par le formol, n'exercent aucune action hyperthermisante.

L'examen des résultats recueillis par l'emploi d'anaesotuberculines obtenues par des cultures de b. bovins sur milieu de Baudran et sur bouillon peptoné glycériné (de même que nous avons déjà dit par l'A. E. T. provenant du milieu Sauton), nous semble être tout en faveur de la spécificité de l'A. E. T. étant donné que l'observations de tels résultats prouve que les produits de dérivation du milieu de culture qui accom-

pagnent l'A. E. T. obtenue de l'ordinaire bouillon glycériné, n'ont aucune importance dans la détermination des réactions obtenues.

Si on cultive le bacille tuberculeux dans les petits ballons ordinaires sur un terrain constituée par de l'eau glycérinée à 7,5, 10, 15, 20, 25% préalablement stérilisée à l'autoclave, on remarque comment le même bacille peut trouver, aux dépens des éléments constitutifs la glycerine et l'eau, des conditions suffisantes de vie et de développement, si limités soient ils. En effet, après 1, 2, 3, 4, mois on observe, particulièrement en regardant en transparence des parois, que la surface du liquide est recouverte d'un voile très légér comparable à une très mince pellicule parsemée d'agglomerés bacillaires, irrégulièrement sphériques ou elliptiques, à surface rugueuse et partiellement submergés.

La coloration par le méthode de Ziehl, révèle que ces bacilles poussés dans un milieu si précaire d'éléments nutritifs, ont perdu en grande partie leur caractéristiques de coloration, et bien peu sont encore les éléments qui ont la caractéristique acide résistence.

Et bien, si on prépare avec la technique connue l'A. E. T., on constate comment ce produit dérivé d'un milieu nutritif privé de peptones et de sels, manquant pratiquement de substances cireuse et adipeuses, soit capable de déceler un état allergyque, sur les bovins tuberculeux, ainsi que Finzi (l. c.) l'a demontré.

Il est naturel que des bacilles veçus si misérablement à échange réduit, et qui se multiplient en nombre faible et à rytme lent ne peuvent avoir éliminé qu'une faible quantité d'esotuberculine.

L'A. E. T. préparée au quatrième mois du semis, d'une culture à 7,5% de glycérine, inoculée aux doses de 4, 6, 8, 10 cm.³ à des bovins tuberculeux, a été capable d'un écart thermique maximum de la température moyenne précédente de 2° 5. Avec ceci on ne veut pas soutenir son activité, son efficacité en sens absolu, parce que seulement une partie des bovidés tuberculeux ont réagi positivement à l'ésotoxine tuberculeuse.

Nous admettons cela, soit parce que sur sept sujets tuberculeux (révélés par une A. E. T. de contrôle) trois seulement réagirent aux doses respectivement de 6, 8, 10 cm.³ (et avec des différencés thermiques correspondantes de 1° 2 – 2° 3 – 2° 5).

L'exemple tiré de ces resultats est assez significatif quand on veut comprendre les conditions spéciales imposées au développement du bacille tuberculeux et quand on pense aux exigences nutritives et à la particulière attention mise par les savants en cette matière (spécialement par les préparateurs de tuberculine) pour offrir au bacille les meilleures ressources favorables à son rapide et abondant développement.

Dans le problème que nous nous sommes proposés, nous pouvons

encore avancer, apportant d'autres éléments capables d'une rémarquable contribution à l'étude du problème de la spécificité des réactions à l'A.E.T.

Suivant l'habituel procédé de préparation de l'A. E. T. au fur et à mesure qu'avec une pipette à bulles, on aspire le liquide de culture au dessous du voile, celui ci s'abaisse graduellement: se maintenant à la surface du milieu nutritif jusqu'à s'appuyer sur le fond et sur les parois du récipient, quand le dit milieu aura été complètement apsiré.

Puis, comme il a été déjà indiqué par G. Finzi (l. c.) si au moyen de la même pipette à bulles on porte sur le fond du récipient, c'est à dire sous le voile, une solution de formaline à 5‰, ou une solution de liquide de Lugol à 1%–10%, ou de l'eau glycériné à 25% (ou même un liquide quelconque), le voile se soulève à nouveau à mesure que l'on ajoute du liquide, jusqu'à se porter au niveau primitif, si l'introduction corréspond en quantité à la précédente soustraction.

Si après un temps varié 15 - 20 - 40 - 60 jours de séjour au thermostate, l'eau glycérinée, la solution de formaline et de Lugol, viennent aspirées, filtrées sur papier en ajoutant (seulement naturellement à l'eau glycériné) de la formaline en proportion de 5‰, on obtient un produit qui, comme Finzi l'a déjà observé (l. c.), inoculé aux bovins tuberculeux atteste des propriétés presque toujours comparables à celles de la commune A. E. T., comparables non seulement pour les réactions thermiques, mais aussi pour les réactions générales et de foyer.

Ce qui vient d'être exposé nous amène à admettre que le bacille tuberculeux en contact avec l'eau glycérinée, formolée ou iodée, a continué dans son activité vitale (eau glycérinée) et secrétoire (eau formolée et iodée) cédant au liquide de culture les produits de son propre échange au moins, pendant un certains temps.

Dans le premier cas, ainsi que dans les deux derniers, le liquide de deuxième récolte a eu la possibilité de s'enrichir à suffisance de toxines solubles pour se révéler capable d'action hyperthermisante chez les bovins tuberculeux.

En pursuivant dans nos recherches conformément à ce que fit déjà Finzi (l. c.), l'eau glycérinée de deuxième récolte, après 15, 20 jours de contact avec les voiles, fut remplacée par une solution de formaline à 5‰.

Récupérée après 4 semaines avec la même technique cette solution filtrée sur papier et inoculée à des bovins tuberculeux à des doses de 4 - 6 - 9 - 12 cm.³ a manifésté une action spécifique, car elle a été capable de provoquer des réactions thermiques maximum de 40° 5–40° 9, avec des différences maximum de 2° 2–2° 4.

Pourtant en comparant l'efficacité de ce produit de troisième récolte avec celui de deuxième dérivé de la même solution de formaline, on remarque que ses proprietés sensibilisantes ont graduellement diminué.

Enfin, si à la solution de formaline de deuxième récolte on substitue une deuxième solution d'égale concentration en formaline, préalablement filtrée sur papier, on obtient un produit qui, dans les conditions auquelles fut expérimenté par nous (après trois semaines de contact avec les voiles et aux doses de 4 - 6 - 9 - 12 cm.³) il a donné des résultats à peu prés constamment négatifs au point de vue diagnostique chez des bovins qui à une epreuve de contrôle avec de l'A. E. T., se révélèrent tuberculeux. Evidemment dans ce dernier cas la solution de formaline de deuxième récolte, avait tué et depouillé presque complètement les éléments bacillaires de la culture de tout ce qu'ils pouvaient avoir de toxique, tandis que l'eau glycérinée de la deuxième récolte ayant concédée la survivance du germe, a fait que, au moment de l'introduction de la solution de formaline de troisième récolte, le même germe, ne fut pas empêché de continuer de même dans sa difficile existence, cédant au milieu de culture une discrète quantité de produits solubles.

A quels autres éléments rattacher l'activité spécifique de ces produits de troisième récolte ? On ne saurait.

Une dernière considération enfin: les produits de deuxième et de troisième récolte, même quand ils ne furent pas capables de déterminer des réactions thermiques chez des bovins tuberculeux, manifestèrent-ils pour le moins le pouvoir de les sensibiliser en présence d'un essai successif avec une tuberculine de contrôle ? en général oui. Nous disons en général, parce que si souvent la réaction thermique commençait à la 2ᵉ, 3ᵉ, 4ᵉ, 5, heure de la deuxième inoculation, atteignant le maximum à la 7ᵉ, 8ᵉᵉ 9ᵉ, 10ᵉ heure: quelque rare fois elle commançait à la 9ᵉ, 10ᵉ heure et non plus tard avec maximum à la 14ᵉ, 15ᵉ.

Nous devons donc penser que quelque produit de deuxième et troisième récolte non suffisamment actif envers quelques uns des sujets tuberculeux inoculés, comme celui de troisième récolte qui s'est révélé presque complètement inactif, contient des éléments sensibilisables envers une successive inoculation d'une A. E. T. active obtenue en bouillon peptoné glycériné.

Cet état de sensibilité provoqué par un produit non suffisamment efficace au point de vue diagnostic et révélé par une A. E. T. active, ne parle-t-il pas en faveur de la spécificité de cette dernière ?

Influence de la chaleur sur l'activitè de l'A. E. T.

A côté du problème de la spécificité de l'A. E. T., nous avons expérimenté l'influence que le chauffage pouvait avoir sur ce produit.

Finzi a exprimé en plusieurs la occasions conviction que l'activité de

l'A. E. T. est explicable par le fait que les hautes et prolonguées températures lui sont épargnées.

L'A. lui-même a exprimé ses intéressantes vues sur l'action des composés des tuberculines en général, en présence de la chaleur. Il admet que l'activité toxique d'une tuberculine résulte de la combinaison de deux différents éléments, l'un thermostable, l'autre thermolable. La combinaison intime de ces deux éléments serait indispensable afin que les propriétés toxiques d'une tuberculine puissent se manifester plus rapides, plus énergiques et chez tous les sujets plus ou moins infectés. Dans la tuberculine préparée selon les vieux systèmes, l'élément thermolable serait naturellement détruit. La tuberculine brute serait ainsi mutilée d'un de ses éléments toxiques, éléments qui, au contraire, se trouve conservé dans l'A. E. T.

Nous donneront plus loin l'explication de comment la tuberculine brute peut manifester sa propre activité toxique diagnostique.

Dans le but de voir si la chaleur pouvait avoir une influence facilement démontrable sur l'activité de l'A. E. T., nous avons chauffé à 60°, à 80°, à 98°-100° successivement pendant une heure de temps, trois échantillons de la même A. E. T.

Cette A. E. T. différemment chauffée, fut inoculée à 3 groupes de bovins tuberculeux aux doses de 2,5 cm.³.

Des résultats obtenus on ne peut affirmer que le degré différent d'intensité de chaleur, ait pu exercé une influence appréciable, comme on ne peut affirmer que ces trois échantillons de A. E. T. comparés avec l'A. E. T., épargnés de la chaleur, aient manifesté une diversité d'action toxique, soit à l'égard de la précocité, et de l'intensité et durée de la réaction thermique, soit à l'égard de tout l'ensemble des manifestations qui caractérisent la réaction classique à la tuberculine.

Ces résultats ne détruisent pas toutefois les opinions de Finzi. En effet, il admet que toutes les tuberculines privées, par la chaleur, de leur élément thermolable, se complètent aussitôt qu'elles viennent inoculées dans un organisme tuberculeux en tant qu'elles trovent en lui l'élément thermolable nécessaire pour être complètées et pour pouvoir manifester leurs proprietés toxiques chez les animaux en état allergique.

Prochainement Finzi communiquera la raison pour laquelle même les bovins frappés de tuberculose grave et diffuse réagissent typiquement en présence de l'A. E. T. sans encourir dans le phénomène pour lequel les réactions tuberculiniques sont souvent inversement proportionnelles à la gravité de l'infection, jusqu'à avoir des réponses négatives oû l'infection se trouve aux phases les plus avancées. Nous pouvons même avancer à cet égard l'idée qui peut être ainsi résumée: l'A. E. T., étant une tuberculine complète, ne demande pas à l'organisme auquel elle vient

inoculée l'élément thermolable qui peut manquer oû l'élément infectieux n'est plus capable de provoquer une réaction défensive, oû, en présence du même élément l'organisme se comporte passivement, comme il arrive dans les organisme fortement frappé par le bacille tuberculeux. Pour cela l'A. E. T. ne se prête pas à ces erreurs diagnostiques dont peut être inculpée la tuberculine brute.

Conclusions. – L'examen des faits et des considérations exposées, nous autorise à affirmer:

1°) que le très haut pourcentage de tuberculeux susceptible d'être révélé avec l'A. E. T. (produit que nous voudrions identifier et nommer *tuberculine Finzi*) est seulement en relation à la grande diffusion de l'inféction et a la remarquable activité diagnostique de l'A. E. T.;

2°) ainsi qu'il a été demontré par M. Finzi, nous pouvons aussi véritablement soutenir que l'ensemble des substances contenues dans le bouillon de culture n'entre pas en action à côté du principe actif de l'A. E. T. même à travèrs les modifications qui lui sont apportées par le développement du bacille:

a) parce que l'A. E. T. rétirée soit du milieu Sauton soit de celui de Baudran, aussi dans nos mains a pu déterminer des réactions comparables et même supérieures à celles données par l'A. E. T. dérivée de bouillon peptoné glyceriné;

b) parce que les bovins qui ne réagissent pas à l'A. E. T. obtenue en milieu de culture synthétique (Baudran et Sauton) ne réagissent à l'A. E. T. retiré du bouillon peptoné glycériné;

c) parce que l'A. E. T. obtenue sur des milieux très simples d'eau glycérinée, privée de peptones et de sels, révèle encore des propriétés spécifiques hyperthermisantes;

d) parce que les produits de deuxième récolte se sont démontrés d'une activité parfois parfaitement comparable à celle de l'A. E. T.;

e) parce que même ceux de troisième récolte ont démontré de posseder, quoique non constamment, des propriétés comparables à celles de l'A. E. T.;

3°) que l'A. E. T. soit enfin un produit d'action spécifique celà est confirmé par le fait que même quand les produits de deuxième et troisième récolte prouvent de posséder d'insuffisantes, incomplètes propriétés spécifiques diagnostiques, ils determinent chez les bovins tuberculeux inoculés des réactions plus ou moins evidentes et un état d'hypersensibilité, se révélant par la manifestation de réactions précoces et typiques en présence d'une réinoculation avec l'A. E. T.;

4°) toutes les anaesotuberculines expérimentées, desquelles est pourtant éxclue la présence de substances capables de modifier les propriétés pathogènes et physiologiques des anaesotuberculines, résolvent le

problème en faveur de l'activité spécifique des poisons solubles du B. de Koch contenus dans l'A. E. T.;

5°) par nos expériences les tuberculines préparées sur le milieu Sauton ne sont pas d'activité toxique inférieure à celles obténues par bouillon peptoné glycériné. En effet l'A. E. T. dérivée du premier terrain a révélé un pouvoir diagnostique indentique à celle obtenue par le second;

6°) encore une fois nous voulons affirmer que la « tuberculine Finzi » à cause de l'extrème semplicité de sa préparation, pour l'activité et le pouvoir diagnostique qu' elle décèle, pour l'avantage economique qu' elle représente, mérite d'être considérée comme élément de premier ordre dans la lutte contre la tuberculose bovine, car ses avantages vis-à-vis des vieilles tuberculines sont evidents.

(*Travail du laboratoire de M. le prof. Finzi, à l'Institut Supérieur de Médicine Vétérinaire de Milan*).

BIBLIOGRAPHIE.

(1) *G. Finzi*, « Rend. della R. Accademia Naz. dei Lincei », vol. X, serie 6ª, II sem., fasc. 1-2, 1929; « Profilassi », 1929, fasc. V.

(2) *E. Sarzi-Sartori*, « Il Moderno Zooiatro », 1929.

(3) *N. Baboni*, « Deutsche Tierär. Wochenschrift » », 1931.

(4) *R. Soldati*, « Profilassi », 1931, fasc. VI.

(5) *E. Valcarenghi*, « Il Moderno Zooiatro », N. 3, 1931.

(6) *A. Fasana*, « Critica Zootecnica », 1931.

(7) *G. Larroux* e *R. F. Martorell*, citati in «Profilassi», 1931, fasc. III.

(8) *G. Finzi*, « Rend. della R. Accademia dei Lincei », 2 febbraio 1931; « Profilassi », 1931, fasc. I.

(9) *N. Baboni*, « Profilassi », 1931, fasc. III.

(10) *K. Joseph*, « Zeitsch. F. Immunit. », 1914.

(11) *B. Sauton*, « C. R. Académie des Sciences », 1913.

(12) *G. Baudran*, « C. R. Académie des Sciences », 1910.

(13) *A. Calmette*, « L'Infection bacillaire et la tuberculose chez l'homme et chez les animaux », pag. 106, 1928.

(14) *G. Finzi*, « Rend. della R. Accademia Naz. dei Lincei, vol. XII, serie 6ª, II sem., fasc. 11, 1930; « Profilassi », 1930, fasc. VI.

(15) *N. Baboni*, « Annali d'Igiene Sperimentale », 1931.

(16) *H. R. Heguito*, *L. J. Murguia* e *A. Tortorella*, « Primo Congresso Naz. di Med. Vet. dell'Uraguai », dic. 1930.

PEPEU F. – **La vaccination antidiphtérique au moyen de l'anatoxine.**

(Relation au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

On a beaucoup écrit et beaucoup parlé dans ces dernières années de la vaccination antidiphtérique; et malgré cela son application n'a pas encore atteint en Italie la diffusion qui serait désirable dans la lutte contre une maladie aussi dangereuse. L'idée de contribuer à répandre davantage ce moyen si efficace de prophylaxie m'a induit à accepter la mission que m'a donnée le Président de ce Congrès, d'en illustrer les plus récentes expériences.

L'insuffisance des moyens ordinaires de prophylaxie dans la lutte contre la diphtérie, due à la grande diffusion du bacille diphtérique et à la fréquence des porteurs de germes, ainsi que le partiel insuccès de la sérothérapie qui tout en étant un remède merveilleux, n'avait pu réduire la mortalité au-dessous d'un certain niveau, ont poussé, depuis 1909, toute une série de chercheurs (Theobald Smith, Roux, Babes, Madsen. Park, Kretz, pour ne nommer que les principaux) jusqu'à Behring, en 1913, à des tentatives d'immunisation prophylactique. Après beaucoup d'expériences avec différents vaccins on a enfin adopté pour une longue période de temps un vaccin formé par un mélange toxine-antitoxine, proposé par Ehrlich (hyponeutre, neutre, hyperneutre), qui a donné de bons résultats. Ces vaccins n'eurent pas, toutefois, une grande diffusion; ils furent employés sur une plus vaste échelle seulement dans l'Amérique du Nord et en Allemagne; en Italie à peine dans quelques localités et sporadiquement (Soncini à Mantoue). Quelques accidents, survenus à l'étranger, dûs principalement à des erreurs de technique, jetèrent le discrédit sur cette méthode. Chez nous elle a été complètement abandonnée, depuis que Ramon fit connaître l'emploi de l'anatoxine pour la vaccination.

L'introduction de l'anatoxine dans le champ de l'immunisation marque un réel progrès, fécond d'applications pratiques. L'innocuité absolue de l'antigène rend possible l'inoculation de doses beaucoup plus fortes que celles mises à notre disposition par les autres méthodes, et augmente ainsi la probabilité d'atteindre une immunisation complète et de longue durée.

Sept années se sont déjà écoulées depuis les premières vaccinations effectuées par Ramon avec l'anatoxine diphtérique et six depuis les premières expériences faites dans tous les pays. Les enfants vaccinés se chiffrent par millions.

Les deux conditions, innocuité et pouvoir vaccinant, que nous devons exiger d'un vaccin sont aujourd'hui, pour l'anatoxine diphtérique, hors de contéstation. L'innocuité en est confirmée par le fait que sur des millions de vaccinés pas un, que nous sachions, a souffert d'un inconvénient qui puisse être attribué à la vaccination. Il est, toutefois, toujours nécéssaire de contrôler rigoureusement sur les animaux l'innocuité de l'anatoxine avant de la mettre en circulation pour servir aux êtres humains. Nous inoculons d'ordinaire sous la peau d'un lot de cobayes 5 cc. pour chaque animal de l'anatoxine destinée à la vaccination. Les cobayes, qui restent 30 jours en observation, ne doivent présenter aucun signe de souffrance.

Pourtant cette anatoxine, qui a été supportée sans conséquence par le cobaye, animal — comme on le sait — très sensible à l'action de la toxine diphtérique, peut provoquer quelquefois chez les vaccinés des réactions locales et générales. Les réactions locales consistent en une rougeur plus ou moins étendue de la région où a été faite l'injection et, quelquefois, en une tuméfaction. La réaction générale se limite à une élévation de la température, rarement accompagnée de malaise général, d'urticaire ou de quelque léger trouble nerveux. Des médecins français ont observé quelques cas d'hématurie transitoire ou de rougeur hémorragique (Paisseau et Ducas, Debré, Hallé) guéris sans conséquences.

En Italie, autant que cela me résulte, on n'a eu aucun cas d'une semblable phénomènologie. La durée des réactions est presque toujours courte. Grâce à la complaisance des confrères qui pratiquèrent en 1929 et 1930 la vaccination antidiphtérique avec notre anatoxivaccin et qui ont rapidement et scrupuleusement répondu à un questionnaire que nous leur avons envoyé, je suis en mesure aujourd'hui de rapporter des observations sur 16.521 vaccinations souscutanées. Sur 91 confrères qui ont envoyé leur rapport, 44 déclarent de ne pas avoir observé des réactions appréciables, 26 ont constaté de légères réactions, 21 des réactions plus fortes. Ces 21 confrères ont vu globalement 27 cas dignes d'observation et plus précisément: un cas d'urticaire, un cas avec une forte tuméfaction adémateuse de la fesse, un cas avec 40°,5 de température, quatre cas avec température jusqu'à 40°, vingt avec température entre 38° et 39°,5. Les réactions ont toujours disparu, après peu de jours, sans laisser aucune suite. De semblables réactions ont été observées dans tous les pays et sont expliquées par Ramon et Zoeller comme des phénomènes, d'allergie. En effet, chez les tout petits enfants, il n'y a presque pas de réaction à l'injection, tandis qu'à mesure qu'ils grandissent plus facilment apparaît la réaction; réaction qui est très fréquente chez les adultes.

Il existe, à ce sujet, une statistique de Moloney et Fraser qui ont trouvé:

entre	5–9	ans	7%	de vaccinés avec réactions
»	10–19	»	29%	» » » »
»	20–35	»	37%	» » » »

Johann affirme que les réactions surgissent avec une plus grande fréquence à partir de la septième année. Elles seraient dues, également d'après cet A., à la sensibilisation de l'organisme avec des protéines du bacille diphtérique venu occasionnellement en contact avec l'organisme au cours de la vie de chaque individu. Le fait que les réactions sont parfois plus marquées à la seconde injection confirmerait cette supposition. La troisième injection, au contraire, ne provoque jamais une réaction, phénomène que l'on voudrait expliquer par la désensibilisation de l'organisme survenue à la suite des deux premières injections. Une action toxique directe du vaccin peut être exclue.

Pour éliminer, autant que possible, le danger des réactions qui, alors même qu'elles n'auraient pas de suite, peuvent toutefois impressionner le public et discréditer la méthode, il sera nécéssaire de vacciner surtout les enfants au-dessous de sept ans, en employant des anatoxines avec pH. 6,9-7,2, qui ne produisent pas la moindre lésion chez les cobayes et produire enfin des anatoxines avec un contenu minime de protéine, ce que l'on est en train d'étudier dans plusieurs instituts et chez nous.

Second point: Le pouvoir immunisant. D'innombrables expériences faites depuis Ramon sur de petits et de grands animaux ont démontré que l'anatoxine conserve le pouvoir antigène de la toxine dont elle dérive. Les vaccinations exécutées sur des enfants, soit avec le contrôle de l'épreuve de Schick, soit avec la recherche de l'antitoxine dans le sérum, ont permis de constater que dans le plus grand nombre de cas on a effectivement dans l'organisme la production d'une quantité d'antitoxine suffisante à protéger l'enfant de l'infection. Il est nécessaire de donner une grande importance à deux faits: que toutes les anatoxines n'ont pas une égale puissance d'immunisation et que la production de l'antitoxine de la part de l'organisme survient, toujours, avec lenteur et seulement après un certain temps. Pour de motifs pas encore précisés on peut avoir des toxines excellentes en tant que a. d. l. m. et en tant que valeur de L_0 et L_+, mais pas bonnes comme antigènes, lesquelles transformées en anatoxines n'auront qu'une puissance immunisante faible ou nulle. C'est pourquoi il est nécessaire de choisir soigneusement les anatoxines qui doivent servir à la vaccination. Ramon a conseillé dans ce but de les essayer au moyen de la floculation avec le sérum antidiphtérique et d'employer seulement celles contenant au moins 10 unités antigènes comme le prescrit également le règlement de la Santé de Washington. Nous soumettons toutes les anatoxines à cet essai, ne nous limitant pas toute-

fois à celui-ci seulement car nous avons constaté que parfois certaines toxines, même avec une excellente floculation, peuvent être douées d'une faible puissance antigène. Par suite de cet imparfait parallélisme entre floculation et pouvoir antigène nous pratiquons, systématiquement, le dosage indiqué par Kraus et ses collaborateurs, par Glenny et par mon aide Pauli, dosage basé sur le déplacement de la toxine en un mélange toxine-antitoxine lorsqu'au mélange on ajoute une certaine quantité d'anatoxine. En plus nous essayons le pouvoir antigène sur les cobayes, preuve celle-ci la plus sûre, ainsi que nous avons pu le constater et que l'a déclaré dernièrement Kolle. Nous effectuons l'essai ainsi: les cobayes qui ont reçu 5 cc. d'anatoxine sont inoculées un mois après avec 100 d. l. m. de toxine et ils doivent survivre. Cette expérience nous montre que l'immunisation obtenue un mois après l'injection de 5 cc. d'anatoxine est notable. La quantité employée pour les enfants est bien moindre, surtout si l'on prend en considération le rapport du poids du corps, mais en échange on leur fait trois injections et plus précisément de 0,5-1-1 ½ cc. à la distance de quelques semaines l'une de l'autre.

L'efficacité des injections ainsi préparées et dosées se manifeste presque chez tous les vaccinés: c'est-à-dire que presque tous sont immunisés ainsi que nous pouvons le relever de la réaction de Schick qui dans les 95% à 98% des cas, de positive devient négative, un jusqu'à deux mois après la vaccination. D'après les plus récentes pubblications nous apprenons que pour avoir le résultat définitif il est nécessaire de faire l'épreuve de Schick deux mois après la vaccination. Il reste toujours, cependant, un très petit pourcentage de vaccinés Schick positifs. Cet insuccès relatif est dû exclusivement à des particularités de l'organisme. Certains individus sont réfractaires à l'immunisation ou ont besoin d'une quatrième injection de vaccin, comme on l'a vu quelquefois, pour devenir finalment Schick-négatifs.

Dans la pratique les résultats ont été jusqu'à présent excellents. Beaucoup de médecins nous ont informés que dans les localités où l'on a procédé à la vaccination en masse des enfants, la diphtérie a disparu complètement. Il est à noter que la vaccination a été faite en 1929 et 1930 presque exclusivement en période d'épidemie et dans des zones fortement frappées par l'infection. Il y eut des cas vraiment instructifs: des médecins venus pour nous demander conseil pour combattre une série d'infections dans leur région, nous informèrent, qu'après la vaccination de tous les enfants, ils n'observèrent plus aucun cas de diphtérie. Comme en France il y eut également chez nous quelques insuccès, dûs ou à une insuffisante immunisation ou à ce que les vaccinés etaient réfractaires, ainsi que je l'ai dit plus haut, ou bien peut-être, dans quelques cas, à une anergie momentanée de l'organisme à la suite de quelque légère

maladie intercurrente. Il ne faut pas oublier qu'un organisme immunisé peût perdre, même temporairement, l'immunisation à la suite de l'apparition d'une grippe ou de tout autre malaise.

Pour revenir à la statistique que j'ai compilée, à la fin de 1930 il résulte que sur 16.521 vaccinés, pour la plupart exposés à la contagion, 55 ont contracté l'infection, de ceux-ci 3 seulement en forme grave avec deux décès; les 52 autres avec un cours extraordinairement bénin.

Si, toutefois, nous examinons de près ces chiffres nous constatons que 7 infections seulement, dont 6 très légères, se montrérent après un mois et davantage de la vaccination, et, de là, on peut considérer que l'état d'immunisation qui aurait dû déjà être présent comme conséquence de la vaccination pregressa avait fait défaut, tandis qu'au contraire l'infection diphtérique se présenta dans 13 cas après la première ou deuxième injection et, dans 35 cas, peu de jours après la troisième, c'est-à-dire à une époque à laquelle il n'y avait pas lieu de supposer que la vaccination eut déjà entièrement exercé son action immunisante.

De toute façon, et cela pourra être dit avec plus d'autorité par le représentant de la Direction de la Santé, car beaucoup de données de comparaison me font défaut, la morbidité parmi les vaccinés est très inférieure à celle parmi les non vaccinés et la mortalité en est minime.

J'ai voulu illustrer d'abord la vaccination sous-cutanée parce que c'est celle qui est le plus fréquemment employée et qui nous a fourni jusqu'à présent les résultats les plus certains. Ses avantages sont le dosage exact et sa facile application; l'unique inconvénient est le petit pourcentage de réactions qu'elle produit.

Passons maintenant à l'autre méthode d'introduction du vaccin: la voie nasale. Elle a été déjà expérimentée par Ramon et Zoeller, et par nous également, sur une vaste échelle. Avec cette méthode on peut appliquer l'anatoxine, qui doit être toujours concentrée et glycérinée, soit au moyen d'insufflations où, comme le proposent Salvioli et d'autres, par instillation. Les résultats sont bons, jusqu'à présent, mais ils varient beaucoup d'un expérimentateur à l'autre. De 50% environ de réactions de Schick négatives pour les uns on arrive jusqu'à 90% pour les autres. La statistique dressée par moi à travers l'enquête auprès des médecins qui ont employé notre vaccin a donné les chiffres suivants: vaccinés par la voie nasale au moyen d'insufflations 10.753 dans 21 localités en période d'épidémie:

17 vaccinateurs n'ont pas observé des cas d'infection parmi les vaccinés;

4 vaccinateurs sur 8747 vaccinés n'ont enregistré que 44 infections, toutes à cours léger; de celles-ci:

13 pendant la vaccination et 31 un mois et plus après la vaccination.

Le résultat semble donc être moins bon que pour la vaccination souscutanée.

Les causes qui peuvent contribuer à rendre cette forme de vaccination moins efficace sont plusieuses: la difficulté qui existe, quelquefois, d'insuffler une quantité suffisante à de petits enfants qui opposent de la résistance; la couche de mucus qui se trouve sur les muqueuses et qui peut empêcher la réabsorption de l'antigène; l'insuffisante instruction des enfants qui se mouchent aussitôt après l'application et, ce que nous avons pu vérifier dans quelques cas, la quantité trop faible de vaccin insufflé.

L'application en est si simple qu'elle peut être faite même par des infirmières, gardiennes ou maîtresses. Malgré cela, dans quelque cas nous avons observé que quand ce personal non médical n'avait pas été bien instruit les applications étaicut faites avec trop de rapidité et avec une excessive économie de material. Nous avons même pu une fois nous assurer que dans une école on avait employé la dixième part de vaccin qui aurait été necessaire pour le nombre des vaccinés.

La méthode semble encore aujourd'hui moins bonne que celle par injections, mais en perfectionnant la technique, en introduisant un antigène très concentré et en surveillant bien l'application on peut espérer peut-être, que la rhinovaccination devienne un jour la méthode préférée. En effet la muqueuse rhinopharyngienne est le siège le plus exposé à l'infection diphtérique, et l'immunisation locale, outre que celle générale, peut avoir peut-être une grande importance dans la défense contre la diphtérie; en plus l'absence presque totale de réactions, après la rhinovaccination, rend ce système plus acceptable par le public.

J'aurais dit « absence totale » si, dans les derniers temps, ne m'étaient parvenues quelques dénonciations — en tout 10 — de rhinites ou éczémas des narines observés après la vaccination, sans toutefois pouvoir — les vaccinateurs mêmes le disent — en attribuer, avec certitude la faute à l'anatoxine.

Pagani-Cesa, dans une récente publication, se déclare très favorable à cette forme de vaccination, non seulement pour les motifs cités mais aussi pour la simplicité de la technique et pour la sympathie qu'elle peut rencontrer auprès des mères, très souvent contraires aux injections.

Il y a encore une troisième méthode, imaginée par Löwenstein. Elle consiste dans la vaccination par la voie percutanée avec l'application d'un vaccin composé de germes tués et d'anatoxine dans la vaseline. Cette méthode donnerait également, d'après l'expérimentateur cité, de bons résultats, alors même que l'A. admette que le pourcentage de Schick négatifs soit, avec ce procédé, inférieur à celui que l'on obtient avec les autres méthodes. Les contrôles faits par nous, par Schmidt, par Otto et Blumen-

tal n'ont pu toutefois confirmer pas même les succès partiels de Löwenstein. C'est pourquoi je considère que ce ne soit pas le cas de recourir à cette troisième forme de vaccination. Reste donc le choix entre la vaccination par la voie sous-cutanée et celle par la voie nasale; il est difficile de dire, à l'état actuel de nos expériences, à laquelle des deux il faut accorder la préférence. Personnellement je choisis la voie hypodermique pour la sûreté du dosage; à moins que d'autres motifs de caractère non médical, comme la peur des injections, l'impossibilité, dans quelques écoles, d'obtenir le consentement écrit des parents, la nécéssité de confier l'exécution au personnel non médical, ne conseillent l'emploi de la rhinovaccination.

A quel âge faut-il vacciner la population enfantine?

D'après toutes les statistiques et sur la base des données fournies par l'epreuve de Schick on sait que la récéptivité de la diphtérie est maxima dans la première année de vie et décroît graduellement avec l'âge des enfants. L'âge le plus dangereux est celui qui précède l'entrée en classe et spécialement celui de l'entré dans les asiles. Avant la premiere année des difficultés techniques et des résistances de la part des parents rendent la vaccination presqu'impossible; il faut aussi noter, que pendant la la première année de vie, et spécialement pendant les six premiers mois, l'organisme n'est pas un bon producteur d'anticorps, comme l'ont démontré Behring, Zangemeister et Römer et d'autres. La réaction de Schick ne nous donne aucune indication pendant cette période à cause de la faible réactivité de la peau des nourrissons, ainsi qu'a pu le prouver Friedberger, et non à cause de la présence d'anticorps maternels en circuit. Par conséquence nous recommanderons la vaccination dès la première année de vie en insistant spécialement à ce qu'elle soit faite avant l'entrée des enfants dans les asiles et dans les écoles élémentaires, et nous vaccinerons également les enfants s'approchant de l'adolescence attendu que dans les écoles nous constatons des infections même chez des écoliers de 12 à 15 ans. On ne doit pas oublier non plus le corps enseignant, ni les gardiennes, ni les infirmières des divisions enfantines. Celles-ci présentent également un certain pourcentage de morbidité par diphtérie et parfois restent pendant longtemps porteuses de germes. Maîtresses d'asile et d'écoles élémentaires, gardiennes et infirmières d'enfants devraient être soumises, systématiquement, à l'épreuve de Schick et vaccinées si elles sont Schicks-positives.

Quels sont les enfants que nous devons exclure de la vaccination pour éviter des dommages à leur organisme? Comme on l'a vu, tout en étant la vaccination absolument inoffensive, il serait prudent d'en éxclure les enfants atteints de maladies incidentes, pour ne pas aggraver par une éventuelle réaction vaccinale le cours de la maladie et aussi pour éviter

d'attribuer à la vaccination la faute du malaise déjà existant. Nous ne vaccinerons pas les enfants ayant des maladies de la peau, ni, en général, ceux ayant une mauvaise santé. Denks et Mozer ont constaté des réactions très fortes chez les enfants tuberculeux et scrofuleux.

Ce seraient là des contre-indications pour la vaccinations souscutanée, tandis qu'en dehors des affections des muqueuses réspiratoires il ne devrait pas en exister d'autres pour la rhinovaccination.

Il me semble intéréssant de rapporter un exemple instructif qui démontre la nécéssité et, également, l'obbligation pour le médecin de s'informer avec soin de l'état de santé des enfants, avant de procéder à la vaccination: dans une école on a vacciné un enfant qui avait une blessure infectée au pied. Malheureusement quelques jours après se déclara un cas grave de tétanos. Quoiqu'il fut facile d'exclure l'injection comme cause de l'infortune et de démontrer que le tétanos avait été produit par la lésion au pied, il y eut une rebellion des parents contre le médecin et l'on dut interrompre la vaccination.

A quelle époque faut-il vacciner? Généralment on a recours à ce moyen prophylactique lorsque le danger est imminent, c'est-à-dire lorsqu'on a déjà constaté une augmentation de l'infection. C'est humain et compréhensible qu'en présence du péril, les autorités sanitaires et les parents mêmes courent à la défense. Mais il serait bien mieux et plus profitable de vacciner en un moment de calme. Puisque la récrudescence de la diphtérie se constate toujours de décembre à mars, pourquoi ne vaccinerait-on pas en automne, à l'époque de l'ouverture des asiles et des écoles, ou bien en juin avant leur fermeture? Avec un peu de propagande les parents comprendraient l'avantage de cette mesure de précaution. Toutefois, même en pleine épidémie, on peut tranquillement vacciner sans crainte de danger pour les enfants. De différents côtés on a opposé la question préjudicielle de la phase négative, qui, d'après Wright, devrait faire suite à toutes les vaccination. S'il est difficile d'affirmer l'existence de cette appréhensive phase négative pour les autres vaccinations, elle a été éxclue avec certitude pour l'anatoxivaccination. Prigge a démontré expérimentalement que les animaux vaccinés avec l'anatoxine ne présentent pas, dans la période qui suit immédiatement, une plus grande réceptivité ni du côté des germes ni du côté des toxines. Et dans la pratique courante et d'après les publications et les rapports envoyés par les médecins, il résulte que les vaccinations effectuées pendant une épidémie ont contribué à la faire disparaître rapidement.

Le problème de la durée de l'immunisation obtenue par la vaccination est également un problème intéressant. Les recherches les plus complètes et les plus exactes, à ce sujet, ont été faites par Ramon et Debré, lesquels ne se sont pas limités à l'épreuve de Schick, mais ont vouln

Prospéctus des vaccinations pratiquées pendant les années 1929 *et* 1930.

	Vaccination subcutanée	Vaccination moyennant insufflation nasale
Nombre total des vaccinés	17.568	11.687
Âge des vaccinés:		
jusqu'au 6 ans	6.985	2.023
depuis la 6ème à la 10ème année	5.536	5.195
depuis la 10ème à la 15ème année	1.338	1.559
Sans indication d'âge	4.608	2.910
Réaction intense avec temp. supér. aux 38°.	30	Absence de réaction fébrile. Rinites et ezémas modiques.
Infections diphtériques parues dans les vaccinés:		
pendant la vaccination	14 légères – 0 graves	12 légères – 0 graves
jusqu'à 1 mois depuis la vacc. ..	32 » – 3 » (2 !)	1 » – 0 »
1 mois et plus depuis la vacc. ...	6 » – 1 »	31 » – 0 »
Médecins qui ont pratiqué la vacc...	N. 95	N. 21

Controles avec la réaction de Schick:

Vaccination subcutanée							
Avant la vaccination				4-8 semaines après la vaccin.			
N. total	+	—	% +	N. total	+	—	% —
1647	1103	544	66,9	980*	51	929	94,8
Rinovaccination							
Avant la vaccination				8 semaines après la vaccin.			
N. total	+	—	% +	N. total	+	—	% —
2846	pas déterminées **			1629*	477	1152	70,8 ***

* Tous avec réaction de Schick positive avant la vaccination.

** Pour tous les 2846 enfants la réaction de Schick ne fut pas pratiquée.

*** Ces chiffres comprennent aussi les enfants au-dessus de 12 ans. On a constaté que dans les enfants au-dessous de 12 ans le pourcentage de réactions négatives depuis la rinovaccination est notablement supérieur.

doser l'antitoxine présente dans le sérum des enfants à la distance de 1, 2, 3, 4 ans de la date de la vaccination. Leurs résultats sont très instructifs et ils démontrent, encore une fois, la grande valeur de la vaccination; après plus de 4 ans le 97,5% des vaccinés avait encore una quantité d'antitoxine supérieure à 1/30 d'unité, quantité qui, comme on le sait, détermine la négativité de la réaction de Schick et devrait être suffisante pour protéger l'organisme contre l'infection. Le 43,85% des vaccinés avait plus d'une unité d'antitoxine dans le sérum; ce qui indique une immunisation importante et telle qu'on n'avait jamais pu atteindre avec aucun autre vaccin.

Je désire indiquer encore un argument intéressant; à savoir: l'anaphylaxie.

Jusqu'à ce jour les expérimentateurs étaient d'accord pour vanter chez l'anatoxine l'avantage de ne pas posséder les qualités anaphylaxogènes qui sont notoirement présentes dans le vaccin-mélange toxine — antitoxine; mais Johan et Tomcsik, dans une récente pubblication, rapportent une observation au sujet de deux enfants qui après avoir été sérotherapisés reçurent une injection d'anatoxine et réagirent avec des symptômes très semblables à ceux de la maladie du sérum. Et Tomcsik communique d'avoir pu produire, avec l'anatoxine, l'anaphylaxie chez les cobayes sensibilisés avec le sérum. Neill, Sugg et Richardson rapportent des expériences réussies avec l'anaphylaxie obtenue par l'anatoxine chez des cobayes sensibilisés avec celle-ci. Un médecin milanais m'a décrit un cas unique avec quelque léger symptôme semblable à ceux de l'anaphylaxie chez une fillette vaccinée depuis peu. J'ai voulu répéter les expériences de Tomcsik et de Neill et collaborateurs et j'ai traité en conformité beaucoup d'animaux; jamais je n'ai pu produire l'anaphylaxie avec l'anatoxine. Je n'exclue, pas, toutefois, que chez quelque sujet isolé, d'une grande sensibilité aux protéines bactériques ou en général vers les protéines hétérogènes puisse se manifester une phénomènologie réactive à introduire dans le grand groupe de l'anaphylaxie. Toutefois les réactions observées jusqu'à présent n'ont jamais été préoccupantes et ont toujours disparu rapidement.

Ayant évalué les données fournies par les expériences de beaucoup d'observateurs qui se sont occupés de l'argument et par les nôtres, je considère que l'on peut être satisfaits des résultats obtenus jusqu' à ce jour et que, d'accord avec ce qui a été recommandé par le Gouvernement national au sujet de la prophylaxie antidiphtérique, il est necessaire de faire auprès de la population la plus grande propagande pour la diffusione de ce moyen vraiment bienfaisant pour la défense de nos enfants.

MILANI C. – CUBONI E. – **Inoculation de la malaria chez l'homme et immunité antimalarique.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Dans l'Hôpital Provincial Lolli des Maladies nerveuses, à Imola, on pratique, depuis 1924, la malariothérapie de la paralysie générale progressive ainsi que de quelques autres formes morbides. Sans entrer dans l'appréciation des résultats thérapeutiques obtenus, nous sommes proposés de recueillir des données aptes à expliquer le fait que chez certains individus la M. ne prend pas ou bien offre un cours qui conduit à l'avorteme nt.

Pour la malariothérapie on a employé le plasmodium vivax (8 souches, dont une provenant de la Clinique du Prof. *Wagner-Jauregg*).

On injecte en moyenne 6 cc. de sang pour les inoculations hypodermiques suivies de scarifications et 3 cc. pour les intraveineuses.

Pour les inoculations mixtes on a employé 5 cc. hypoderme et 3 intraveine.

Les inoculations ont été toujours pratiquées directement du donateur au receveur et l'on a laissé se développer dans chaque malade 12-13 accès; les interruptions spontanées s'entendent pour cela survenues avant le douzième accès.

Défaut de prise de la M. inoculée. – La première fois on injecta 145 malades; chez 3 (2,06%) de ceux-ci (desquels 3 n'avaient pas souffert de M. naturelle) l'infection ne se développa pas. Notre pourcentage d'insuccès est sensiblement inférieur à celui reporté par d'autres AA. (*Gerstmann*, *Kirschbaum*, *Nonne*, *Cardillo*) lesquels obtinrent respectivement 5-6%; 10%; 5%; 15% d'insuccès à la première inoculation. Comme explication de cette différence de données on peut invoquer deux faits: le premier que des 145 cas dont ci-dessus, 8 seulement étaient (ou l'on a eu des doutes qu'ils le fussent) précédés par la M. naturelle, bien que d'après nos recherches, comme nous le dirons plus loin, ne soit pas résultée confirmée l'assertion de certains AA. que la M. naturelle qui a précédé s'oppose à la prise d'une M. successive d'inoculation, et le second que la quantité de sang employée par nous pour l'infection a été un peu supérieure à celle employée par beaucoup d'autres médecins (le nombre de plasmodiums que l'on inocule n'est pas certes sans importance quant au résultat de l'inoculation).

Peut-on à présent, comme explication du pourquoi la M. n'a pas eu de prise en 2,06% de nos cas, étant donné que les sujets en question n'avaient pas souffert précédemment de M. naturelle, admettre un état

d'immunité congénitale antimalarique? Beaucoup de malarialogistes nient que cette immunité puisse exister, en se basant sur le fait que dans les zones fortement malariques aucun individu se trove qui n'ait pas en acte ou n'ait pas souffert d'infection paludique. Mais alors même que l'on ne voudrait pas parler d'une immunité absolue et constante dans le temps, en tant que l'on ne peut exclure que les mêmes sujets portés à vivre dans des régions malariques et exposés à des inoculations répétées de sporozoïtes auraient fini par contracter la M., lorqu'on considère que dans deux de nos cas l'infection a été tentée infructueusement plusieurs fois, en recourant à deux souches différentes et que des cas analogues ne manquent pas dans la littérature, il semble fondé d'admettre que l'on puisse vraiment rencontrer dans quelque individu isolé (2,06% d'après nos données) et peut-être seulement pour quelque période de la vie, une véritable resistence à la malaria.

Cessation spontanée de la M. inoculée. – De 134 malades qui sûrement n'avaient pas souffert de M. naturelle et chez lesquels la greffe de la M. thérapeutique a réussi, les fièvres cessèrent spontanément avant la 12e accès chez 14 c'est-à-dire 10,44%. Ces données s'écartent peu de celles reportées par d'autres AA. On ne peut affirmer que la cessation spontanée des fièvres soit une caractèristique particulière de la M. inoculée, parce que si d'un côté la notoire bénignité du cours de cette infection provoquée autorise à supposer que les forces defensives naturelles de l'organisme puissent, au moins dans un certain nombre de cas, en avoir rapidement raison, de l'autre manquent – que nous sachions – des recherches de contrôle numériquement suffisants pour pouvoir affirmer qu'également dans la M. naturelle, non traitée par la quinine, les accès ne tendent pas à cesser spontanément, du moins dans un certain nombre de cas. Par analogie avec ce qui se passe en général dans les maladies infectieuses, on est en droit de supposer que cela soit ainsi en réalité, mais l'on ne pourra établir des comparaisons avec la manière de se comporter de ce phénomène dans la M. inoculée tant que l'on n'aura pas des données complètes sur la fréquence de cette présumable tendance de la M. naturelle à la cessation spontanée.

Le fait sur lequel nous rapportons plus loin, que chez les ex-malariques naturels et chez les remalarisés il y a une évidente augmentation du pourcentage des cessations spontanées, ce qui est en faveur de l'idée que la cessation précoce de la M. inoculée dépend d'une plus grande promptitude de la part des mécanismes défensifs à répondre à la stimulation apporté par l'infection, c'est-à-dire d'un état d'immunité relative, mais congénitale ou, quoi qu'il en soit, non conditionné par une infection malarique qui a précédé doit se référer la cessation spontanée des fièvres chez les non malariques (rencontrée en 10,44% de nos cas).

Nom.	Malarie naturelle précédente	I Inoculation	Intervalle jours	II Inoculation	Intervalle jours	III Inoculation	Intervalle jours	IV Inoculation	Intervalle jours	V Inoculation	Intervalle jours	VI Inoculation
1. Réinoculation.												
P. E.	no	+	361	+								
M.	no	+	423	(+11)								
O.	no	+	54	(+6)								
R.	no	(+11)	676	(+8)								
Rond. ...	no	+	305	(+6)								
Rang. ...	no	(+10)	717	(+2)								
St.	no	+	128	(+4)								
N. G. ...	no	+	110	(+5)								
Bal.	si ?	(+5)	766	—								
F. O.	no	+	470	(+8)								
Cir.	si	(+2)	15	—								
Rom. ...	no	(+5)	31	—								
C. V. ...	no	+	167	—								
2. Réinoculation.												
F.	si ?	(+6)	23	(+4)	55	(+9)						
Sc.	no	+	482	—	38	(+3)						
Bon.	no	+	748	(+7)	21	—						
Min.	si	(+4)	26	—	17	—						
Scot.	no	+	?	(+2)	43	—						
Tamb. ..	no	+	?	(+7)	17	—						
3. Réinoculation.												
S.	no	(+5)	36	—	40	—	18	(+1)				
Cr. L. ...	no	+	502	(+3)	17	—	8	—				
Giov. L. .	no	+	238	(+6)	12	—	15	—				
Fun.	no	—	?	—	4	—	7	—				
Zamb. ...	no	—	970	(+4)	245	—	8	—				
Luisi	no	+	360	—	?	—	?	—				
4. Réinoculation.												
Rad.	no	+	171	(+2)	12	—	6	—	7	—		
Dav.	si	(+4)	50	—	12	—	11	—	2	—		
5. Réinoculation.												
Fil.	no	+	572	(+2)	342	—	30	—	18	(+1)	30	(+1)

\+ le cours des fièvres a été interrompu par la quinine.
(+) interruption spontanée; le nombre indique après combien d'accès.

N. B. – Le cas « Fun. » avait été infructueusement inoculé par 3 fois dans un autre hôpital un an auparavant.

Influence de la M. naturelle qui a précédé sur la M. d'inoculation. – Chez 8 sujets dont 5 avaient certainement souffert de M. et 3 avec une grande probabilité, l'inoculation a bien pris chez tous, et par suite l'infection a cessé également chez tous, spontanément, et plus précisément chez 3, après 5 accès fébriles; chez 3 après 4 accès et chez 2 après 2 accès. Maintenant, si l'on compare le pourcentage des cessations spontanées chez les ex-malariques naturels (8 cessations spontanées sur huit cas) avec 10,44% de cessations spontanées constatées chez les non ex-malariques, on ne peut nier l'existence d'un rapport entre M. naturelle qui a précédé et tendance à la guérison rapide spontanée de la M. provoquée. Il est donc permis d'admettre que la M. naturelle qui a précédé peut être la cause d'une immunité antimalarique acquise relative, sur la durée de laquelle nous ne pouvons rien dire.

Influence de la M. d'inoculation qui a précédé sur les réinoculations. – Dans le but d'obtenir d'ultérieurs résultats thérapeutiques, chez 28 paralitiques progressifs a été répétée la malariothérapie et plus précisément: 1 fois sur 13; 2 sur 6; 3 sur 6; 4 sur 2; 5 sur 1; soit ensemble 56 réinfections effectuées sur ces 28 malades. De ces 28 malades réinoculés une ou plusieurs fois et qui à la première inoculation avaient contracté l'infection, sur 22 (78,5%) la réinfection se développa et sur 6 (21,4%) elle ne se développa pas. Des 56 réinfections, considérées globalement, ont pris 23 (41%) chiffre bien inférieur à 97,9% de résultats positifs obtenus par nous à la première greffe sur des non ex-malariques. En outre il faut noter que de ces 23 cas dans lesquels la M. a pris, les fièvres cessèrent spontanément dans 22 cas (95,65%).

Quant à l'éventuel rapport entre le nombre des réinoculations et la facilité de développement des nouvelles greffes successives, on a vu que:

Sur 28 malades qui eurent 1 ou plusieurs réinocul., la M. prit, dès la 1.ère réinoculation, chez 18 (64,28%).

Sur 15 malades qui eurent 2 réinocul. ou davantage, la M. prit, dès la 1.ère fois, chez 9 (60%) et 2 fois chez 2 (13,3%).

Sur 9 malades qui eurent 3 réinocul. ou davantage, la M. prit, dès la 1ère fois, chez 5 (55,5%), 2 fois chez 0 et 3 fois chez 1 (11,1%).

Vu leur petit nombre de cas on ne considère pas ceux avec 4 et 5 réinoculations; les chiffres exposés démontrent que plus est grand le nombre des infections qui ont précédé et d'autant moins il y a de probabilité de succès pour d'autres réinoculations.

En conclusion la M. inoculée, comme celle naturelle, donne lieu également (d'une manière irrégulière toutefois, étant donné que dans certains cas on peut obtenir également plusieurs réinfection consécutives) à un état de plus grande résistance à l'infection qui se révèle aussi bien avec la plus grande tendance à la guérison spontanée, qu'à la moindre facilité de prise de l'infection provoquée.

Influence de l'état général sur la prise et la durée de la M. – Ont été défini dans de *bonnes* conditions les malades en conditions normales de nutrition et d'hématoses; *moyennes* les individus avec un léger pannicule adipeux, des masses musculaires hypotoniques et hypotrophiques; pâleur de la peau et des muqueuses; *moins bonncs* les sujets notablement dépéris, anémiques, souvent épuisés par des états d'excitation psychomotrice ou par la durée de la maladie. Des 142 malarisés, 23 étaient dans des conditions moins bonnes: chez ceux-ci la M. se développa constamment ayant un cours régulier chez 21 (91,3%) et cessa spontanément

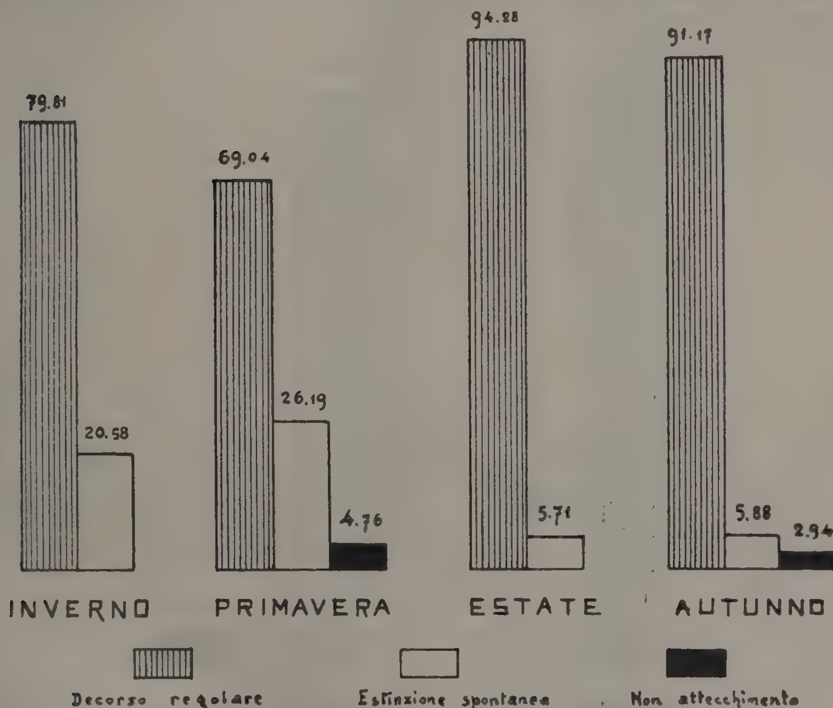


Fig. 1. – Influence de la saison sur le cours de la malaria inoculée.

chez 2 (8,70%). Des 3 malariorésistants 2 étaient en de bonnes conditions et 1 en conditions moyennes. Les variations entre certaines limites de l'état général (délibérément nous n'avons pas expérimenté sur les malades gravement cachectiques, chez lesquels la malariothérapeutique est contre-indiquée) n'influent pas sur la prise et le cours de la M. inoculée.

Influence de la saison sur la prise et le cours de la M. inoculée. – Les pourcentages relatifs aux 145 sujets inoculés, pour la première fois résultent du graphique ci-joint (fig. 1), dans lequel in met en évidence que

la fréquence des cessations spontanées, au printemps et en hiver, dépasse de 15-20% celle constatée en été et en automne.

Influence de la maladie nerveuse sur la prise et le cours de la M. inoculée. – Il a été affirmé que chez les paralytiques progressifs on rencontre plus fréquemment l'immunité envers la M. Chez nos malades non paralytiques progressifs la M. a pris chez tous dès la 1.ère inoculation; les 3 réfractaires à la M. étaient des déments précoces. Le pourcentage de la fréquence des cessations spontanées résulte du graphique 2, dans lequel on met en évidence qu'il n'y a aucune différence dans la manière de se comporter entre paralytiques progressifs et malades d'autres formes morbides.

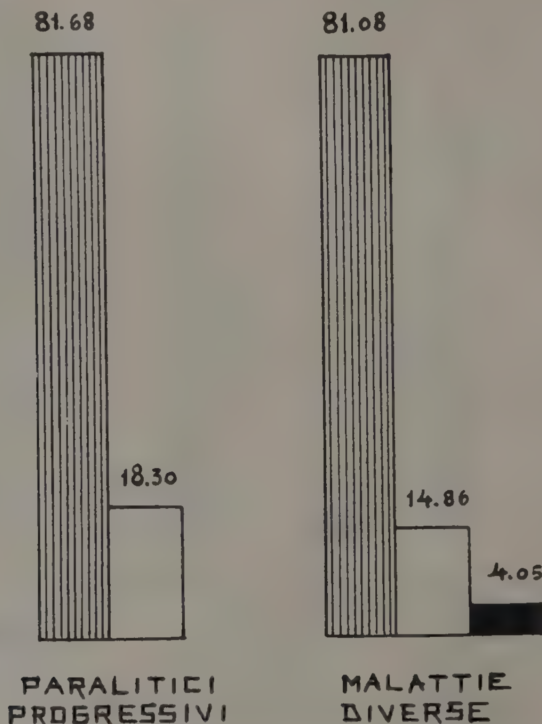


Fig. 2. – Influence de la maladie nerveuse sur le cours de la maladie inoculée.

Influence de la manière d'inoculer le sang sur la M. inoculée. – Au point de vue des diverses manières d'inoculer des plasmodiums malariques (la quantité de sang employée a toujours été la même pour tous les cas) on obtint les résultats résumés dans la fig. 3, de laquelle il résulte que la voie d'inoculation a très peu ou aucune influence sur la prise et le cours de la M. inoculée.

Rapports entre la prise de la M. et période du cycle fébrile pendant laquelle a été prélevé le sang à inoculer. – Étant donné le nombre restreint des cas (3) dans lesquels la M. ne se développa pas, nous ne croyons pas pouvoir présenter des statistiques à ce sujet, mais nous nous limiterons à observer que des 3 réfractaires à la M. 1 avait été inoculé avec du sang

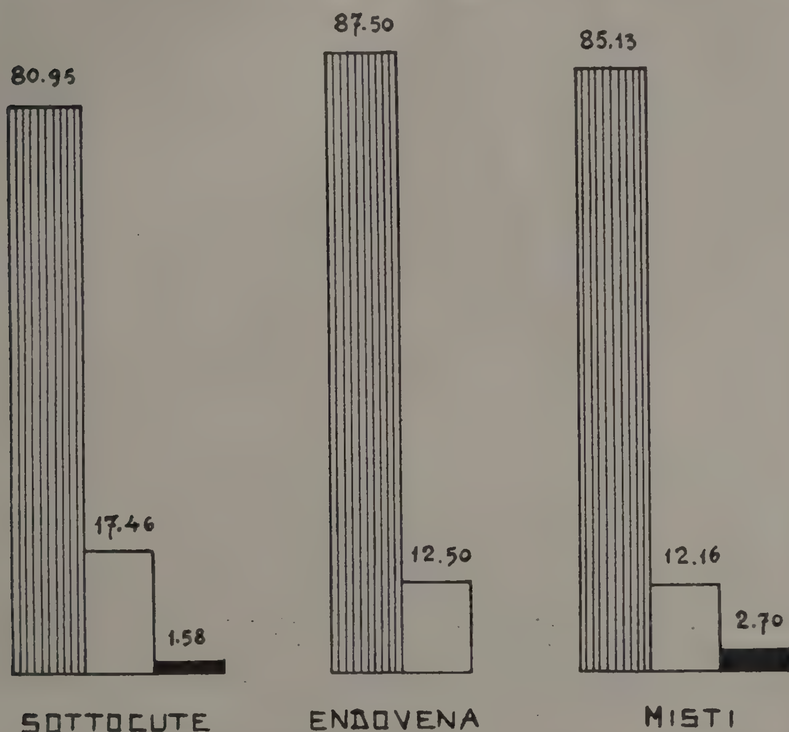


Fig. 3. – Influence de la manière d'inoculer le sang au cours de la malaria inoculée.

prélevé pendant l'accroissement de la fièvre et 2 avec du sang prélevé au moment du maximum. Dans un autre travail (*) nous reportons sur les éventuels rapports entre la durée des fièvres et la période du cycle pendant laquelle a été prélevé le sang infectant. Nous observerons incidemment que dans nos cas l'inoculation de sang prélevé pendant le frisson ou l'accroissement de la fièvre, abrégea sensiblement la période d'incubation.

(*) Boll. Ist. Sierot. Mil. 1931 fasc. V, pag, 225.

CURZI M. – **Rapports entre les genres " Microascus " Zukal et " Scopulariopsis " Bainier.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

La description que Saccardo (1) fit, en 1881, du *Penicillium brevicaule*, porta presque tous les mycologues à penser que le genre *Penicillium* Link pouvait aussi comprendre des espèces avec un système conidifère n'ayant qu'une certaine ressemblance avec celui des espèces typiques.

Ainsi plusieurs mycologues célèbres tels que Lindau (2) et Biourge (3) et d'autres encore, outre Saccardo, introduisirent l'espèce de Saccardo et celles semblables, dans le genre *Penicillium*, malgré la morphologie différente à cause du système sporifère plus ou moins irrégulier, et les fialofores souvent très différents, isolés ou groupés de différentes façons sur une branche conidiophore généralement très courte et plutôt grosse.

Le *Penicillium brevicaule*, comme il arrive très souvent pour les espèces qui n'occupent point leur position systèmatique, finit par recueillir un groupe d'espèces que Bainier (4), en 1907, reconnut être différentes et qu'il crut bon de décrire comme un genre distinct auquel il donna le nom de *Scopudariopsis*.

Plus tard Sopp (5) et Thom (6) et d'autres mycologues qui se sont occupés de ce groupe d'hyphomycètes en les étudiant en rapport avec les *Penicillium* typiques, ont conservé la distinction de Bainier d'un genre indépendent de celui de Link, tandis que plusieurs auteurs ont continué à considérer ces espèces comme faisant partie du genre *Penicillium* en restant fidèles à l'erreur taxonomique commise par quelques systèmatiques immortels. Même Bainier, Sopp et Thom n'ont su se dépouiller totalement de l'influence suggestive de cette erreur, et bien qu'ils admettent la nécessité de la séparation, et la profonde différence des caractères morphologiques et biologiques, ils considèrent ces hyphomycètes comme des espèces très proches du genre *Penicillium*.

Mes dernières recherches sur certaines espèces de *Scopulariopsis* pourvues du stade ascophore, m'ont induit à laisser de côté cette façon d'envisager, et à affirmer que, non seulement les *Penicillium* de la Sec-

---

(1) *Saccardo P. A.* « Fungi italici », tab. 893, 1881 (Michelia, II, pag. 547, 1882.

(2) *Lindau G.* « Fungi imperfetti » (Hyphomycètes, 1910).

(3) *Biourge Ph.* « Les moisissures du groupe Pernicillium Link » (La Cellule, 33, fasc. I, pag. 7-331; Pl. Col. I-XIII, Pl. I-XXIII, 1923).

(4) *Bainier M. G.* « Mycotèque de l'École de Pharmacie: XIV: Scopulariopsis, genre nouveau des Mucédinées » (Bull. Soc. Mycolog. France; tom XXIII, p. 98, 1907)l

(5) *Sopp O. J. O.* « Monographie der Pilzgruppe Penicillium mit besonderer Berücksichtigung der in Norwegen gefundenen Orten » (Videnskapselskapets Skrifter; I Mat. Naturv. Keasse, N. 11, 208 pp., 23, tabl. 1912).

(6) *Thom Ch.* « The Penicillia », fig. 99, pag. 644, London, 1930l

tion *Anomale* de Biourge doivent être considéré à part et être décrits dans le genre de Bainier, mais aussi que entre les genres *Penicillium* et *Scopulariopsis* il y a des différences qui sont bien plus profondes que celles qui distinguent les genres *Aspergillus* Mich. et *Penicillium.*

Si nous comparons entr'eux les stades parfaits de quelques espèces de *Penicillium* et d'*Aspergillus*, nous pouvons toujours observer une certaine affinité dans l'appareil de la reproduction sexuelle, dans la forme et la structure du périthèce, dans l'évolution de l'ascus, et les genres même étant différents, nous restons toujours dans le même ordre (*Plectascales*) et dans la même famille (*Eurotiaceae*). Mais les espèces du genre *Scopulariopsis* présentent, au contraire, un appareil sexuel complètement difffférent et les périthèces nettement ostiolés des *Sphaeriales.*

En concluant, le genre de Bainier comprend les espèces fonqueuses qui ne peuvent être considérées comme des plectascales; on ne peut donc les classifier comme une espèce de *Penicillium* ou comme étant très proches aux espèces typiques de ce genre.

***

Tout dernièrement, en décrivant et en cultivant une nouvelle espèce de Pyrénomycètes du genre *Microascus* Zukal (*M. Cirrosus*), il m'a été donné d'observer la relation entre le genre de Zukal, du quel jusqu'à aujourd'hui on ne connaissait que quelques espèces phymicoles décrites sommairement sans aucun stade metagénétique, et les genres des hyphomycètes *Scopulariopsis* et *Stysanus* Cda. Les observations sur le *M. Cirrosus* (1) m'ont suffit pour rechercher dans la littérature de ces genres et de ceux semblables de nouvelles relations et de nouvelles espèces de *Microascus*, citées sous des noms génériques très différents et très impropres.

En attendant de publier une étude monographique que je suis en train de compiler, je ferai, à ce Congrès, la communication de mes observations les plus importantes, que je résumerai comme il suit:

Les stades ascophores de plusieurs *Scopulariopsis* et de quelques *Stysanus* a sporophores fialiformes, que l'on peut considérer comme des formes conidiques agrégées au genre précédent, rentrent dans le genre *-Microascus Z.*

Le développement de l'ostiole dans les périthèces de ce genre n'est pas un caractère constant: il peut s'altérer profondément dans la même espèce, selon les conditions de l'ambient et les souches qui peuvent se séparer d'une forme typique. Ce genre comprend, donc, des espèces qui ordinairement sont pourvues d'un véritable éperon d'une certaine longueur, et d'autres espèces qui, dans les conditions étudiées, n'ont qu'un éperon très court, ou bien, pour mieux dire, un ostiole à peine proéminent.

Les espèces qui développent des hyphes et des fructifications conidiennes foncées, présentent des périthèces à éperon plus prononcé, tandis que celles qui ont les hyphes et les fructifications hyalines présentent les perithèces non éperonnés: mais les corps fructifères se correspondent, tant pour les premières que pour les secondes espèces, en tous les autres caractères et surtout pour la formation et la disposition des ascus et pour la sporification ascogène généralement abondante qui se manifeste sous la forme de cirrus d'ascophores plus ou moins rougeâtres et ferrugineux, longs souvent plusieurs millimètres.

Étant donc donnée cette affinité dans la reproduction ascogène et l'existance d'espèces présentant des fructifications conidiennes intermediaires qui ne peuvent être reportées avec sûreté à l'une ou à l'autre groupe d'espèces, on ne peut séparer les formes fructifères typiques de *Scopulariopsis* mucédinacées, des mêmes fructifications foncées, dematiacées, comme le sont celles du *M. Cirrosus*.

Les noms génériques *Peristomium* Lech (1) et *Nephrospora* Loub. (2), doivent être éliminés et être considérés comme des synonymes du genre *Microascus Z.* décrit précédemment.

L'état conidien du mycète connu jusqu'à aujoud'hui sous le nom de *Peristomium desmosporum Var. Verticillium* Lech., n'est qu'une fructification typique du *Scopulariopsis:* il n'a aucun rapport avec le genre *Verticillium* Nees, auquel il a été référé par erreur, malgré ses fialides portants les petites chaines caractéristiques de conidies. D'ailleurs le *Peristomium desmosporum Var. Oidium* Leck., n'a aucune affinité, même lointaine, avec le genre *Oidium* (L.) Sacc.; les cellules végétatives, à parois épaisses et d'une couleur olivâtre-foncée, intercalaires ou terminales, que Eckley Lechmere appelle « oïdes », correspondent à des simples clamidospores. Cette variété ne représente qu'une variation de l'espèce dans le développement végétatif à cause de la perte dans la faculté de produire des conidies, ou, pour mieux dire, à cause de la séparation d'hyphes différentes de la fructification conidienne de celle clamidosporique.

Les stades ascophores des hyphomycètes connus sous le nom de *Scopulariopsis Cinerea* Weil et Gaud (3), de *Acaulium Albonigrescens* Sopp et d'*Acaulium nigrum* Sopp, doivent être considérés comme des espèces différentes du *Microascus*.

---

(1) *Eckley Lechmere A.* « Description de quelques Moisissures nouvelles provenant de la Côte d'Ivoire » (Bull. Soc. Mycolog. France; tom. XXXIX, pagg. 303-331, fig. 13, pl. XX et XXI, 1913).

(2) *Loubière A.* « Recherches sur quelques mucédinées caséicoles » (Thèses présentées à la Faculté de Sciences de Paris, serie A. n. 982, pagg. 1-94, pl. I-X, 1924).

(3) *Weil* et *Gaudin L.*, « Contribution à l'étude des onychomycoses à Penicillium, à Scopulariopsis, à Sterigmatocistis, à Spicaria » (Arch. Med. Exp. et Anat. Path.. Paris; 28, pagg. 452-467, pl. 12, fig. 4, 1919).

Les Pyrénomycètes *Rosellinia Schumacherii* (Hans.) Sacc. (1) et *Melanospora Stysanospora* Matt. (2), ne sont que des espèces de *Microascus*, et l'on doit, par conséquence, les référer à ce genre, comme je l'ai écrit dans un travail publié tout dernièrement (3).

D'après ce qui a été dit, le genre *Microascus Z.*, doit comprendre, outre les anciennes espèces: *M. Longirostris* Zukal, *M. variabilis* Mass. et Salm. et *M. Nidicola* Mass. et Salm. et celles que j'ai décrites il y a peu de temps sous le nom de *M. cirrosus*, les espèces suivantes:

a) *Microascus Schumacherii* (Hans.), n. comb. (Syn. Sphaerella Schumacherii Hans., 1876; Rosellina Schumacherii (Hans.) Sacc., 1882).

b) *Microascus Stysanosporus* (Matt.), n. comb. (Syn. Melanospora Stysanospora Matt., 1886).

c) *Microascus desmosporus* (Leck.), n. comb. (Syn. Peristomium desmosporum Lech., 1913).

d) *Microascus Manginii* (Loub.), n. comb. (Syn. Nephrospora Manginii Loub., 1924).

e) *Microascus cinereus* n. sp. (Stade conidien: Scopulariopsis cinerea Weil et Gand., 1919).

f) *Microascus albo-nigrescens* n. sp. (Stade conidien: Acaulium albonigrescens Sopp, 1912).

g) *Microascus niger* n. sp. (Stade conidien: Acaulium nigrum Sopp, 1912).

De cette façon le nombre des espèces du genre *Microascus*, s'élève aujourd'hui de quatre à 12, pour sept de ces espèces, on connait aussi les stades conidiens. Pour presque toutes les espèces les ascospores sont inéquilatérales et souvent courbées, excepté pour le *M. desmosporus* et pour le *M. niger* qui sont décrits avec des ascosphores ellipsoïdales et ovales: mais ces faits ne sont pas suffisants pour que l'on considère ces espèces comme n'appartenant pas au genre Zukal, car il y a une correspondance presque parfaite avec les autres espèces du genre, pour ce qui en est de la grande majorité des caractères principaux.

---

(1) *Saccardo P. A.* « Sylloge Fungorum » (Vol. I, Patavii, 1882).

(2) *Mattirolo O.* « Sullo sviluppo di due nuovi Ipocreaci et sulle sporebulbilli degli Ascomiceti » (Atti R. Accad. Scienze. Torino; vol. XXI, 4, pagg. 272-282; Nuovo Giornale Bot. Ital.; pag. 121, pl. 2, 1886).

(3) *Curzi M.* « Petriella, nuovo genere di pirenomicete » (Boll. R. Staz. Pat. Veg. Roma, A.X. n.s., fasc. 4, pagg. 45, fig. 10 intercal., tav. VIII, 1930).j

BARELLI L. – **Influences de liquides organiques sur le développement cultural du bacille tuberculaire.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Sur les conseils de mon Maître, le Prof. Rondoni, j'ai entrepris des recherches pour observer quelle influence pouvaient avoir, sur le développement cultural du bacille tuberculaire, quelques-unes des principales fractions de sang de mammifères.

Ont été prises en considération, successivement, les fractions suivantes de sang:

1°) Sérum frais et sérum inactivé.

2°) Globules rouges lavés.

3°) Globules blancs non lavés et lavés.

4°) Substances hydrosolubles des hématies lavées (principalement oxyhémoglobine).

5°) Fraction albuminique du sérum dialysé et fraction globulinique du sérum dialysé.

6°) Ultrafiltré de sérum.

Pour l'enregistrement des résultats dans les protocoles je me suis servi, quant à présent, seulement de l'examen macroscopique indiquant comme résultat nul tous les cas où l'on ne pouvait assurer, sûrement, ou un résultat favorisant ou un résultat inhibitoire. Je n'ai pas cru opportun de procéder à des pesées des pellicules, qui auraient compliqué et retardé, l'inscription des résultats donnant seulement une apparente exactitude ne correspondant pas au type d'expérience: seulement des différences grossières et par cela même appréciables à l'oeil peuvent être prises en sérieuse considération. En prenant une moyenne de l'épaisseur de l'enduit et de sa surface j'ai exprimé les résultats par des chiffres dans lesquels le nombre 10, tout en n'ayant pas une valeur univoque pour toutes les séries de matras, en a toutefois une relative à chaque série à l'examen, et indique le maximum de développement atteint par les contrôles, indiquant par des chiffres moindres les développements moindres des autres matras et par des chiffres supérieurs les plus grands développements, toutefois des autres matras. Etant donné le type de recherche nécessitant l'emploi de substances protéiques, je me suis servi, comme milieu de culture, du bouillon synthétique de *Boez* et *Quimand* duquel est exclue toute protéine. La souche employée a été le Tb. 11 de la Direction Générale de la Santé du Royaume d'Italie, souche cultivée depuis longtemps dans notre Institut. Chaque culture a été examinée au microscope afin de ne pas attribuer un effet inhibitoire à l'adjonction d'une

fraction hématique lorsqu'il y aurait au contraire en jeu la contamination de la culture. De chaque culture furent préparés des éléments pour essayer l'alcool et l'acido résistance des germes.

1°) *Expérience avec du sérum frais et avec du sérum inactivé.* – Bien que divers AA. affirment l'effet favorisant donné par l'adjonction du sérum aux moyens de culture pour le bacille tuberculaire, je dois préciser que le sérum frais de cobaye ne favorise pas du tout les cultures; mais, au contraire, les rend inhibitoires pendant 8-10 jours, se comporte indifféremment pour 2-3 autres jours pour donner ensuite un effet nettement favorisant. Il est probable qu'il y ait en jeu diverses activités complémentaires qui ont besoin de quelques jours de thermostat pour disparaître. Voici quelques relevés:

29-I-31	Matras	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
	Sérum frais de cobaye ajouté	contrôles		cmc. 2		cmc. 1		cmc. 0,5		cmc. 0,25	
2-II-21	Développement	7	6	2	2	2	2	2	2	3	3
4-II-31	Développement	9	8	2	2	2	2	2	2	4	4
7-II-31	Développement	10	10	3	3	3	3	4	4	5	5
10-II-31	Développement	10	10	6	6	6	6	8	8	12	12
17-II-31	Développement	10	10	20	20	20	20	15	15	15	15

Autre série de culture:

12-II-31	Matras	30	31	32	33	34	35	36	37
	Sérum frais de cobaye ajouté	contrôles		cmc. 1		cmc. 0,50		cmc. 0,25	
17-II-31	Développement	7	8	2	2	3	3	3	7
19-II-31	Développement	10	10	4	4	5	5	6	10
24-II-31	Développement	10	10	12	15	15	15	15	15
30-II-31	Développement	10	10	20	20	20	20	15	20

Le tableau obtenu est différent par l'adjonction de petites quantités de sérum inactivé pendant une demi-heure à 56°, 58°:

11-II-31	Matras	38	39	40	41	42	43	44	45
	Sérum de cobaye inact. ajouté	contrôles		cmc. 1		cmc. 0,5		cmc. 0,2	
17-II-31	Développement	8	8	8	8	8	8	8	8
19-II-31	Développement	10	10	12	12	10	10	10	10
24-II-31	Développement	10	10	20	20	18	18	18	18

C'est digne d'annotation l'aspect des cultures contenant du sérum par rapport aux cultures faites sur le seul bouillon synthétique, attendu que tandis que dans ces dernières la patine tend à se maintenir très mince et seulement en une faible partie plus épaisse et compacte, dans les matras avec sérum, au contraire, on a toujours une pellicule plus boursouflée et typiquement mamelonnée offrant les mêmes caractères culturaux de la souche employée.

2º) *Espériences avec des hématies lavées.* – Du sang agité aussitôt prélevé et laissé siérer, j'enlevais le sérum et lui substituais la solution physiologique que je changeais deux fois dans le but d'écarter, autant que possible, toute trace de sérum. Enlevant avec la pipette la solution physiologique j'obtenais ainsi des hématies lavées que j'émployais sans dilutions. Voici un protocole d'expérience:

2-III-31	Matras..............	50 51 52	53 54 55	56 57 58	59 60 61	62 63 64
	Hématies de cobaye ajoutées	contrôles	cmc. 1,5	cmc. 1	cmc. 0,50	cmc. 0,25
7-III-31	Développement	7	7	7	7	7
9-III-31	Développement	9	9	9	9	9
13-III-31	Développement	10	20	20	15	12
16-III-31	Développement	10	20	20	18	15

Il est opportun de faire observer que dans le but de simplifier les données du protocole, celles-ci ont été résumées un peu schématiquement en négligeant quelques petites différences existant entre les divers matras de la même série.

J'ai obtenu un résultat analogue, mais plus précoce avec une autre série de matras dans laquelle a été employée une dose plus forte d'hématies:

3-IV-31	Matras......................	21	22	23	30	31	32	33	34
	Hématies de cobaye ajoutées .	contrôles			cmc. 2 dans chaque matras				
6-IV-31	Développement	5	5	5	5	5	5	5	5
9-IV-31	Développement	5	5	5	8	10	8	10	10
13-IV-31	Développement	5	5	5	10	10	12	12	12

Dans ce cas l'action favorisante a eu la possibilité de se manifester ouvertement parce que les cultures de contrôle restèrent inopérantes même après les dates indiquées, peut-être parce qu'on a eu recours à une souche qui depuis plus que quatre mois de transplantations successives, croissait sur un terrain synthétique et par suite dans des conditions non optima. Par l'adjonction des hématies également, et cela dès les premiers jours, la patine a un aspect boursouflé et mamelonné, et une épaisseur bien développée, tandis que dans les contrôles on a toujours une formation, un développement de patine très mince et plus étendue en surface qu'en épaisseur.

3º) *Expérience avec des globules blancs non lavés et lavés.* – Les globules blancs ont été obtenus au moyen d'injections de 7-8 cmc. de caséinate de soude (Nutrimon) à 10% dans le péritoine du cobaye. La sérosité que l'on extrait aseptiquement du péritoine après 3-4 heures (et non davantage) contient presque sûrement encore du caséinate de soude, mais est très riche en leucocytes et lymphocytes, d'après les comptages faits dans notre Institut par *Borghi*. Il ne faut pas oublier, toute-

fois, qu'en outre des globules blancs on a une quantité non indifférente de plasma ou sérosité qui a les mêmes propriétés complémentaires du sérum de sang. En effet il y a une grande différence dans la manière de se comporter, obtenue dans les cultures, si l'on ajoute un mélange de globules blancs – et du plasma – ou bien si l'on ajoute seulement des globules blancs lavés (quelqu'imparfaitement que ce soit). Pour obtenir des globules blancs lavés, vu leur faible poids spécifique, il est nécessaire de les laisser se coaguler, aussitôt extraits du péritoine, obtenant ainsi une meilleure séparation de la solution physiologique que l'on emploie pour les laver; la coagulation qui reste après le lavage n'est pas si compacte et peut être aspirée par une pipette ayant une trou d'entrée qui ne soit pas trop étroit. Voici un protocole d'expérience avec des globules blancs non lavés:

11-III-31	Matras	85	86	87	88	89	90	91	92
	Adjonction de leucocytes non lavés de cobaye	contrôles				cmc. 1	cmc. 2	cmc. 2	cmc. 2
16-III-31	Développement	on ne note pas des différences sensibles							
17-III-31	Développement	3	3	4	4	2	2	2	2
18-III-31	Développement	7	3	7	7	7	4	3	1
20-III-31	Développement	7	3	8	8	8	4	3	1
26-III-31	Développement	8	8	8	—	10	8	10	8
3-IV-31	Développement	10	10	10	—	15	25	20	15

Il est évident que la manière de se comporter ci-dessus indiquée est semblable à celle avec du sérum frais, ayant également ici une action inhibitrice pendant 10-12 jours et favorisante ensuite. Ci-après je reproduis un protocole d'expérience, avec des globules blancs lavés, qui documente la notable fonction accélératrice des substances leucocytaires:

3-IV-31	Matras	21	22	23	24	33	34	35	36
	Adjonction de globules blancs lavés	contrôles				cmc. 2	cmc. 2	cmc. 2	cmc. 2
6-IV-31	Développement	3	3	3	3	5	5	5	5
9-IV-31	Développement	4	4	4	4	10	12	15	10
11-IV-31	Développement	4	4	4	4	10	12	15	10
13-IV-31	Développement	4	4	4	4	15	20	20	15

Dans cette expérience l'action favorisante commença très tôt, peut-être parce que l'on s'est servi pour la transplantation d'une culture qui depuis trop longtemps (avec des transplantations successives) était cultivée sur terrain synthétique et, par suite, dans des conditions non voisines de celle optima.

4°) *Expériences avec les substances hydrosolubles des globules rouges.* – En lavant 2-3 fois avec une solution physiologique du sang resté fluide par agitation et en le laissant se déposer, on en enlève le sérum et l'on peut, par l'adjonction d'eau distillée, dans l'éprouvette même, avoir une hémolyse abondante des hématies lesquelles cèdent à l'eau principale-

ment leur oxyhémoglobine qui est un protéide riche en azote (16,78% chez le cobaye) et contient du fer (0,48% chez le cobaye) dans son groupe protéique. En ajoutant cette solution de pigment sanguin nous formons donc un aliment protéique de haute valeur pour les bacilles. Naturellement les contrôles pour cette expérience ont été préparés avec l'adjonction d'une quantité égale d'eau distillée pour autant de solution d'oxyhémoglobine dans de l'eau distillée, que l'on avait ajoutée aux cultures en expérience. Voici un protocole d'expérience:

3-IV-31 Matras	1	2	3	4	5	6	7	8
Solution d'oxyhémoglobine de cobaye ajoutée	contrôles				cmc. 2	cmc. 2	cmc. 2	cmc. 2
6-IV-31 Développement	2	2	2	2	3	3	3	3
9-IV-31 Développement	2	2	2	2	4	4	4	4
11-IV-31 Développement	3	3	3	3	5	5	5	5
14-IV-31 Développement	4	4	4	4	10	10	12	10

5°) *Expérience avec séroalbumine et séroglobine.* – En dialysant du sérum dans une vessie de poisson, on obtient par la sortie des sels et par la précipitation qui s'en suit des globulines de sérum un liquide limpide qui surnage, non coagulable par ébullition, qui est de la séroalbumine. En traitant à part les séroglobulines et en redissolvant dans une solution physiologique, on obtient une solution de globulines que j'ai employée, après stérilisation au bain-marie. La séroalbumine a été employée soit après ébullition à la flamme directe, soit réchauffée à 60° pendant une demi-heure et deux jours de suite, soit en la passant à la bougie Berkefeld.

Je ne reporte pas ici les protocoles de ces expériences, hautement intéressantes à un point de vue théorique, parce qu'elles ont été interrompues par suite d'un incident de laboratoire à cause duquel je suis en train de les renouveler. (Voir le travail définitif sur: Boll. Sierot. Mil. 1931, Fasc. V).

6°) *Expérience avec de l'ultrafiltré de sérum.* – Après avoir employé les diverses fractions cellulaires du sang (hématies, leucocytes), puis les fractions colloïdales du sang, soit mélangées avec les cristalloïdes (sérum de sang), soit dépourvues de cristalloïdes (séroalbumine et séroglobuline), il était logique d'examiner avec attention la fraction cristalloïde du sang. On aurait pu utiliser, après concentration, l'eau distillée qui avait servi à la dialyse; la méthode aurait été assurément longue outre l'obligation de soumettre à la chaleur, d'une manière prolongée (pour la concentration), les composés cristalloïdes avec leur altération possible. C'est pourquoi j'ai préféré la méthode de l'ultrafiltration à travers des filtres de collodion acétique essayés auparavant quant à leur capacité d'empêcher le passage de l'hémoglobine (filtre N. 12 de *Bechold*). L'ultrafiltré a été stérilisé par l'ébullition au bain-marie. D'autres fois il a été stérilisé par

filtration avec la bougie de *Berkefeld*. Voici un protocole d'expérience avec ultrafiltré stérilisé par la chaleur:

11-III-31	Matras	70	71	72	73	74	75	76	77	78	79
	Ultrafiltré sérum de cobaye ajouté	contrôles				cmc. 2	cmc. 2	cmc. 2	cmc. 1	cmc. 1	cmc. 1
13-III-31	Développement	4	5	6	4	1	3	3	6	1	3
16-III-31	Développement	8	8	10	7	1	4	4	8	3	3
20-III-31	Développement	10	10	10	9	2	4	4	10	3	3
25-III-31	Développement	10	10	10	10	4	5	5	10	5	5

7º) *Autres expériences.* – J'en signale quelques-unes à peine car elles ont besoin d'être refaites avant de pouvoir se prononcer sur elles.

a) Un essai a été fait avec du sérum frais de sang de chien dératé depuis un an. Contrairement à la manière d'agir d'animal normal que nous avons vu il est, de règle, inhibitoire pour 8-10 jours, en ce cas l'action a été favorisante, depuis le début de l'expérience, dans tous les matras.

b) On a tenté la cultivabilité du bacille tuberculaire sur l'ultrafiltré pur de sérum de cobaye et, quoique malaisément, il semble qu'il y ait développement de la culture, bien que fassent défaut (parce qu'en cours d'étude) les essais de transplantabilité de germes cultivés sur l'ultrafiltré.

c) J'ai encore en cours les expériences de cultivabilité sur la solution oxyhémoglobinique dans laquelle il ne semble pas qu'il y ait développement de la culture.

d) De même j'ai en cours des expériences de cultivabilité sur la seule séroalbumine et sur la seule séroglobuline.

Discussion des resultats et conclusions.

Je puis affirmer que l'adjonction à un terrain cultural synthétique aprotéinique de liquides organiques, spécialement de composés hématiques, est suivie de facilité ou d'inhibition du développement du bacille tuberculaire et précisément:

1º) L'adjonction de sérum frais, a pendant quelques jours, une action inhibitrice, probablement en rapport à l'activité bactériolitique normale du sérum même; puis vient dominer une action accélératrice du développement, probablement parce que la fonction complémentaire, pendant le séjour dans le thermostat, reste inactivée et domine la propriété nutritive des constituants sériques.

2º) L'adjonction du sérum réchauffé pendant une demi-heure à 56º est toujours suivie d'une considérable accélération du développement cultural; évidemment il s'agit d'une facilité de la nutrition bacillaire.

3°) L'adjonction d'hématies lavées a une action favorisante un peu tardive.

4°) L'adjonction de leucocytes obtenus d'exsudat stérile (de Nutrimon) de cobaye a, si l'exsudat est ajouté tel quel, une action initiale inhibitoire à laquelle fait suite une certaine action favorisante; cette dernière c'est la seule action dominante si les leucocytes sont au contraire libérés du liquide constituant de l'exsudat au moyen d'un lavage. Donc, probablement, dans un premier temps, il résulte, également ici, une certaine action bactériostatique du liquide constituant (sérum) de l'exsudat, reconduisible aux pouvoirs normaux antibactériques thermolables (fonction complémentaire); mais, celle-ci, éliminée par le séjour en thermostat ou par le lavage des leucocytes, on démontre que ces constituants cellulaires du sang et des exsudats contiennent des principes favorisants ou bien fournissent des substances nutritives aux germes, en se dissolvant dans le terrain de culture. On n'a pas de trace de principes antibactériques, avec cette méthode, du moins, rendus évidents.

5°) L'hémoglobine dissoute dans le terrain a plutôt une action favorisante sur le développement bacillaire.

6°) L'ultrafiltré aprotéinique par filtre à collodion acétique a une action plutôt inhibitoire; peut-être ne fonctionne-t-il qu'en diluant le terrain, mais s'il existe des substances antibactériques cela n'est pas certain et même cela n'est guère probable: en effet les bacilles croissent, bien que très difficilement, dans l'ultrafiltré pur.

BATTAGLIA M. – **Bacille de la tuberculose humaine et bovine sélectionné par la vaccinothérapie.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Depuis plusieurs années j'ai suivi l'étude du « b. tuberculosi Kochi » dans les cultures « in vitro » et experimentalement sur des cobayes. Après un grand nombre d'expériences j'ai pu établir que ce micro-organisme se développe d'une façon différente des schizomycètes communs, et qu'il possède des phases de fructification et mycèliaires nettement marquées, de sorte qu'on doit le classifier parmi les *Eumycètes* genre *osporoses*. Petrone, en 1884, avait déjà mis en doute sa nature de schizomycète, et ensuite Metschnikoff, en 1888 le classifia parmi les *Sclerotrix;* d'autres l'ont considéré comme étant une *Cladotrix*, tandis que Schultz et Lubarsch firent observer qu'il y a une affinité morphologique entre la tuberculose et l'actinomycose: Schrön, depuis 1893, a démontré que le b. en question

a une spore à bombe. Au fond les termes Ospore, Discomycète, Nocardie, Streptotricée, Cladotricée, Tricomycète, Actinomycète, Actinobactérie, Mycobactérie, Microsyphonophore, Micromycose sont synonymes, car ils indiquent la même chose. Telles sont les conclusions aux quelles arrivent De Beurmann et Gougerot dans leur très bon traité: « Les Nouvelles mycoses ».

Certains gros grains, que l'on remarque dans les cultures du microorganisme de la tuberculose et dans ses produits pathologiques et même aussi dans les expectorations des tuberculeux, qui furent vus et décrits par Schrön et ensuite, en 1896, par Strauss, et en 1908 par Much, que le brésilien Fontés, en 1910, essaya de séparer des cultures du bacille tuber. K. en filtrant des cultures par Berkefeld, dont Tsetsu en 1922 certifia la présence et Vaudremer (Formes filtrantes des bacilles tuberculeux. Compt rend. Soc. de Biologie, 1.er juin 1923, pag. 80) en 1923, prouva expérimentalement que ce virus filtrant cultivé donnait lieu a des formes filiformes très minces et provoquait, sur les cobayes, l'apparition d'une forme anormale de tuberculose accompagnée de poliadémite tardive généralisée; toutes ces recherches aboutirent aux beaux travaux de Calmette et de ses élèves, sur les virus tuberculeux filtrant (Calmette A., Les éléments filtrables des bacilles de Koch. - Ann. Inst. Pasteur, 3 oct. 1928) qui fut aussi étudié par les expériences apodictiques des notres, tels que Ninni, Sanarelli et Alessandrini.

Toute cette polymorphie peut être suivie « in vitro » et on peut aussi observer qu'il se forme un pigment autoctone du b. t. Kochi (pigment noir).

L'expérience a démontré que les cobayes sont des animaux très précieux pour l'étude de la tuberculose: ils permettent de remarquer la présence du virus tuberculeux dans le matériel pathologique ou dans les cultures où nos moyens de recherche habituels ou spéciaux ne peuvent l'apercevoir, et, en outre, ils renforcent ce virus lorsqu'il est atténué par le temps ou par des conditions particulières (cultures anciennes, filtrés, liquides et produits pathologiques où le virus se trouve dans un état presque d'autoimmunisation). Par ce moyen j'ai pu observer qu'un virus tuberculeux très virulent, lorsqu'il est fait passer d'une culture à une autre modifie profondément sa virulence par rapport aux cobayes jusqu'à la perdre complètement après un certain temps, de sorte que ces cultures, inoculées à des cobayes, n'ont plus aucune action. Mais si ce virus très virulent, devenu inactif à cause des fréquents passages d'une culture à une autre, sur les terrains habituels, est fait passer de cobaye à cobaye, il reprend peu à peu toute sa virulence première, jusqu'à produire en peu de temps, la mort d'un cobaye commun, avec les symptômes caractéristiques de la tuberculose.

La phase où le virus tuberculeux, cultivé « in vitro » pendant longtemps, perd toute sa virulence, surtout dans les cultures liquides, est suivie de la phase lytique où toute forme bacillaire et granulaire et même ses formes filtrantes, disparait: il ne reste que des cristaux et des grains microscopiques de pigment (Les cultures anciennes du bacille tuberculeux et l'anthracose pulmonaire - « La Riforma Medica », N. 6, 1929).

Entre ces deux extrêmes j'ai pu sélectionner une phase du b. tub. Kochi, dont la culture en bouillon, n'a absolument aucune action lorsqu'elle est inoculée à des cobayes, mais produit un état allergique. Tous les savants connaissaient depuis longtemps que le pouvoir pathogène des cultures anciennes du b. tub. Kochi est assez variable et va jusqu'à l'inactivité.

Depuis quatre ans j'ai fais des recherches, avec ces cultures de virus tub. Kochi sélectionné, sur des cobayes rendus tuberculeux avec du virus virulent provenant de cultures fraiches ou de produits pathologiques humains ou des bovidés: l'examen hystohlogique et cultural des animaux d'expérience avait permis d'observer des lésions nettement tuberculeuses avec des élements bacilliformes alcool-et acido-resistants.

En même temps j'inoculais le virus tuberculeux virulents à des cobayes de contrôle et j'ai pu , de cette façon, constater que les virus tuberculeux sélectionné par moi possède un pouvoir vaccinotherapique absolument sûr.

Un grand nombre de cobayes inoculées et soignées, ou bien vaccinées auparavant et inoculées ensuite, ont été sacrifiées à des époques différentes après l'inoculation pour me rendre compte des différents degrès de l'évolution des lésions anatomo-pathologiques produites par les virus tuberculeux dont je m'étais servi: j'ai pu ainsi observer que les glandes voisines du point où l'inoculation a été faite, grossissent, présentent des tubercules, et se caséifient en continuant la vaccinothérapie au point à se réduire à des petits fibromes où l'on peut encore observer des éléments bacilloformes alcool-acido résistants.

Ces recherches m'ont indiqué la voie qu'il fallait suivre pour la vaccinothérapie des cobayes: il faut donc la pratiquer à périodes et la continuer pendant un an à peu près et même plus longtemps, pour éviter que le virus tuberculeux virulent inoculé ne redevienne tel. Comme, nous le verrons ensuite ce fait peut aussi être observé dans les cas de tuberculose humaine; c'est à dire la fixation du virus tuberculeux dans les tissus, ce que du reste les cliniciens ont prévu et les anatomo pathologistes connaissent.

***

Ayant établi ces faits, pour les cobayes, après de longues recherches, j'ai commencé la vaccinothérapie sur l'homme. Tout d'abord j'inoculé

dans le tissus sous-cutané cinq dixièmes de centimètre cubique de culture en bouillon du bacille de Koch sélectionné, et au cours d'une semaine, j'arrive par degrès, à en inoculer un centimètre cubique. Ensuite, à des intervalles de cinq jours, en inoculant chaque fois un centimètre cubique de cette culture en bouillon, j'arrive à injecter jusqu'à trente deux millions de bacilles de vir. tub. Kochi sélectionné pour la vaccination, et jusqu'à cent millions pour la vaccino-thérapie. Si l'individu au quel on fait subir cette vaccino-thérapie n'est pas tuberculeux, après les premières injections il accuse un léger état fiévreux qui monte à un maximum de 38° C. pendant quatre ou cinq heures: s'il est, au contraire, question d'un sujet présentant une lésion tuberculeuse active, soit cutanées, ou des os, ou viscérale, diagnostiquée ou cliniquement prévue, après les premières injections la fièvre monte à un maximum de 39° C. qui dure de 5 à 8 h. et tombe ensuite. Soit pour les uns comme pour les autres je n'ai jamais observé les moindres phénomènes sérotiques. Les malades tuberculeux s'améliorent rapidement et les lésions guérissent cliniquement.

En sachant, comme je l'ai fait remarquer plus haut, que le virus tuberculeux se fixe, dans les cobayes, pendant plus d'un an, et ayant démontré, dans un cas de calcul d'une glande cervicale, sur une jeune femme frappée d'une forme grave de tuberculose des glandes, des os, et viscérale, et guérie cliniquement, que dans le calcul en question il existait le virus tuberculeux, que nos recherches ne peuvent apercevoir, pathogène pour les cobayes (voir, Calcul dans une glande lymphatique tuberculeuse, Annali Italiani di Chirurgia, Vème année, 1926, fasc. 5) je pratique la vaccino-thérapie sur l'homme de la même façon que pour les animaux, c'est-à-dire en série, en l'interrompant pendant un temps plus ou moins long, selon la gravité de la lésion et selon l'état général.

***

Comme le grand nombre d'expériences le démontre, le virus tuberculeux que j'ai sélectionné, lorsqu'il est maintenu « in vitro » perd peu à peu sa virulence déjà très atténuée: pour la maintenir constante il faut la refaire de temps en temps, si cela est possible, et la conserver toujours ainsi, ce que l'on obtient facilement en conservant le virus dans de la glycérine ou dans les cobayes. Mais lorsque le virus sélectionné est conservé dans de la glycérine il est nécessaire, au moins chaque quatre ans, de le passer dans des cobayes et de ces dernières dans des cultures; j'amais d'une cobaye à l'autre, comme je l'ai fait remarquer plus haut.

1ère Clinique Chirurgicale de l'Université Royale de Naples.

PATANÈ C. – **Essai comparatif de plusieurs méthodes tendant à créer expérimentalement des conditions d'hypersensibilité par la Br. abortus.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Conseillé et guidé par le Prof. A. Zironi, auquel j'exprime ici ma vive reconnaissance, j'ai fait des recherches dans le but d'étudier sur des cobayes les effets de différentes méthodes d'administration par voie souscutanée, de doses très petites et moyennes de bacilles de Bang tués, afin de provoquer un état d'hypersensibilité révélable par des réactions intradermiques (germes tués, « abortine » préparée comme la mélitine).

Peu de temps avant de commencer les expériences on traita six cobayes, par voie souscutanée, en inoculant à chacune 1/10 de agar-culture fraîche de Br. abortus, pour avoir, au moment donné, la possibilité de disposer d'un moyen de contrôle sûr de l'aptivité des produits destinés aux épreuves intradermiques.

***

La première série d'expériences fut faite en traitant, à la même date, 3 lots de 7 cobayes chacun.

Les animaux du premier lot furent traités, tout d'abord, par voie souscutanée, avec une seule dose de 6 milliards de germes tués: ceux du deuxième lot furent traités, par la même voie, avec la même quantité — 6 milliards — de germes, divisée en quatre doses de 0,5, 1, 1,5, 3 milliards en pratiquant les inoculations à des intervalles de 6 jours: enfin ceux du troisième lot furent traités pendant vingt jours, quotidiennement, avec 5 millions de germes.

Trentesept jours après avoir commencé ces expériences on détermina le pouvoir agglutinant des différents sérums: les résultats furent les suivants:

a) non supérieur à 1/10 pour tous les animaux du lot traité avec la dose unique de 6 milliards;

b) compris entre 1/25 et 1/125 pour le lot inoculé avec des doses progressives séparées, jusqu'à un total de 6 milliards;

c) nul, au taux minimum contrôlé de 1/10, pour le lot traité pendant vingt jours avec des doses quotidiennes de 5 millions.

Au 40ème jour on pratiqua dans la peau de la région de l'abdomen trois inoculations de 0,1 cc. d'émulsions contenant dans la dose susdite respectivement 5, 10, et 50 millions de bacilles de Bang tués.

L'activité de ces émulsions avait été contrôlée quelques jours auparavant sur les cobayes infectés, et elles avaient régulièrement provoqué des réactions intradermiques très marquées.

Parmi les animaux du lot *a*) deux seulement ont réagi, tardivement et d'une façon plutôt faible. Six animaux du lot *b*) ont très bien réagi, surtout avec les doses de 10 et 50 millions de germes: un ne réagit pas du tout. Du lot *c*), enfin, quatre animaux réagirent très bien, 2 d'une façon douteuse et un pas du tout.

Aucun des six nouveaux cobayes de contrôle, inoculés séparément dans le derma avec les trois doses susdites de germes tués, ne présenta la moindre réaction locale.

Au 65ème jour, on pratiqua séparément, a tous les animaux sensibilisés, trois inoculations intradermiques de 0,1 cc. d'abortine, préparée dix jours auparavant avec la même souche de Br. abortus avec la quelle on faisait les expériences et dont les cobayes infectés avaient démontrée l'excellente activité. Aucun des animaux ne présenta une réaction appréciable.

On fit aussi quelques essais pour étudier si en augmentant par degrès la quantité des germes inoculés dans la peau — toujours dans une quantité de cc. 0,1 du véhicule — il était possible de rendre les réactions plus évidentes: mais les expériences ont démontré que si l'on dépasse de beaucoup la dose de 50 millions, on risque de provoquer des phénomènes réactifs aspécifiques assez prononcés dont l'interprétation est très difficile.

On fit aussi une deuxième série d'expériences sur deux lots de cinq cobayes chacun, dans le but de démontrer si en augmentant légèrement les très petites doses quotidiennes et les doses moyennes périodiques il était possible d'obtenir des résultats plus constants et plus évidents, car pour la série précédente ces deux méthodes semblaient fournir les résultats les plus satisfaisants.

Un lot d'animaux fut traité avec 10 milliards de germes administrés en quatre doses d'1, 2, 3, 4 milliards à des intervalles de cinq jours. Au 35ème jour après le commencement de cette expérience on osserva que le titre de l'agglutination oscillait d'un minimum de 1/300 à un maximum de 1/700. Au 40ème jour on fit les réaction intra-dermiques (50 millions de germes): 4 cobayes réagirent parfaitement bien, tandis qu'un ne réagit pas du tout.

Vers la fin du 5ème mois, le pouvoir d'agglutination du sérum avait pratiquement disparu pour deux des animaux: pour trois il restait à 1/40. Les réactions intradermiques faites à ce moment donnèrent des résultats parfaitement identiques à ceux ci-dessus.

À l'autre lot d'animaux on pratiqua des injections quotidiennes de 100 millions de germes pendant vingt jours. Au 35ème jour on observa

que le titre de l'agglutination oscillait d'un minimum de 1/20 à un maximum de 1/100. Deux animaux, seulement, réagirent (réactions médiocres mais évidentes) à l'épreuve intra-dermique (40ème jour). Vers la fin du 5ème mois le pouvoir agglutinant du sérum n'existait pratiquement plus pour tous les cobayes de ce lot, qui n'étaient plus que quatre: trois réagirent très bien à l'épreuve intradermique (y compris les deux qui, au 40ème jour avaient donné une réaction médiocre) et un ne réagit pas du tout.

Il est intéressant de faire remarquer que j'ai classifié comme « très bonnes » les réactions intradermiques dont la papule était nettement visible, à cause de son aspect conjestionné, sur le fond de la peau normale, et avait en moyenne les dimensions d'une lentille: pour certains cas ces dimensions étaient même surpassées et quelques fois, mais rarement, j'ai pu observer qu'au centre de la papule même il s'était formé une petite eschare. En tous cas je n'ai jamais observé des réactions aussi prononcées, et qui souvent aboutissent à un processus de fusion et de nécrose, comme celles qu'on réussit généralement à provoquer avec le même moyen sur des animaux infectés.

***

Les faits qui ont été exposés ci-dessus peuvent être résumés, en concluant, de la façon suivante.

a) Parmi les méthodes expérimentées d'administration souscutanée de bacilles de Bang tués à des cobayes, celle qui provoque d'une façon la plus satisfaisante un état d'hyppersensibilité que l'on peut révéler avec des réactions intra-dermiques (optimum 50 millions de germes; abortine complètement inactive) semble être celle représentée par l'administration de doses moyennes de germes (5,10 milliards) distribuées progressivement et inoculées au cours d'une vingtaine de jour à des intervalles réguliers. Mais un certain nombre d'animaux (15-20% dans mes expériences) est réfractaire à prendre l'état allergique, qu'on a taché de provoquer au moyen de ce traitement.

b) Même de très petites doses (5-10 millions) répétées chaque jour pendant trois semaines à peu près (100, 200 millions de germes en total), rendent sûrement hypersensible une grande quantité des animaux traités, qui toutefois, au cours de mes recherches, a été beaucoup inférieure à celle obtenue avec l'administration à intervalles de doses moyennes.

c) L'injection de germes vivants suivie par une infection donne naissance, sur tous les animaux, à un état d'hypersensibilité plus prononcé et qui dure longtemps.

d) Des doses isolées de la valeur de celles classifiées comme moyennes (5 milliards dans mes expériences) ont démontré d'être incapables

de produire l'état d'hypersensibilité désiré. Ce fait semble avoir un certain intérêt pratique car, bien qu'il soit difficile de passer des animaux à l'homme, et de généraliser en se fondant sur des phénomènes particuliers provoqués par une seule espèce de bactéries, on peut ainsi remarquer qu'un stimulus vaccinal isolé, compris entre certaines limites d'intensité, est le moins apte à provoquer un mouvement immunitaire capable de se transformer en hypersensibilité.

Ce fait pourrait démontrer qu'il est le cas de tenir compte, « coeteris paribus », du nombre et, éventuellement, de la succession chronologique des inoculations que l'on a faites, lorsqu'on a l'intention d'étudier les effets allergisants d'un vaccin donné.

e) L'inoculation isolée d'une dose moyenne de germes a produit la formation d'anticorps agglutinants en quantité très inférieure à celle que l'on a observée sur les animaux traités avec la même dose administrée par intervalles.

f) L'hypersensibilóté n'a aucun rapport avec les agglutinines, et n'en a pas non plus avec les autres anticorps libres dans les humeurs. Elle peut en effet se manifester, avec un traitement « ad hoc », aussi dans les cas pour lesquels on ne peut démontrer la présence d'agglutinines dans le sang, elle continue après que ces dernières ont disparu, et n'est pas en rapport direct avec leur quantité.

Institut Sérothérapique de Milan – Laboratoires Scientifiques de la Direction.

SCALABRINO R. – **L'hypersensibilité à la br. abortus.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Les observations dont je parlerai ici brièvement regardent certaines recherches expérimentales, dont je me suis occupé pendant un an à peu près et faites à plusieurs reprises, pour essayer de sensibiliser des cobayes vers le bacille de Bang. J'ai fait ces recherches dans le but d'étudier certains détails à propos de la hyperréceptivité aux infections, argument très intéressant et complexe qui fut prospecté, ces dernières années, comme on le sait, par Zironi, et qui s'impose aujourd'hui à l'attention des savants comme un facteur d'importance remarquables dans la pathogénèse des maladies infectieuses.

La doctrine de l'hyperréceptivité, bien qu'elle se fonde sur une forte quantité de données et d'observations soit cliniques soit expérimentales,

se prête encore à de nouveaux développements pour ce qui regarde le mécanisme et la façon selon la quelle cette hyperréceptivité se manifeste et, en outre, l'étude anatomo-histologique des animaux sur les quels on provoque artificiellement cette hypersensibilité. On n'a pas encore étudié d'une façon satisfaisante et assez profonde le rapport entre les lésions que les animaux, possédant une réceptivité normale, présentent vers les microrganismes, et celles que présentent les animaux dont la réceptivité est exaltée: sans vouloir, en effet, limiter ces phénomènes immuno-biologiques dans le champ trop restreint de la morphologie pathologique, il n'y a personne qui puisse méconnaitre que le rapport, sus-dit, peut-être, trè utile au moins sous certains côtés. C'est ici la raison pour la quelle la partie dont je me suis occupé regarde l'étude anatomo-histologique des lésions qui se produisent sur des animaux (cobayes) à réceptivité artificiellement exaltée vers le bacille de Bang, contre l'infection expérimentale avec ce même bacille.

Zironi, Eyre, Corpaci et d'autres AA., avaient déjà étudié, au cours de travaux précédents, le comportement des cobayes vers l'infection produite par la brucella, lorsqu'on produit auparavant, sur ces animaux, un état d'hyperréceptivité avec des petites doses fréquemment répétées, du germe en question. Comme les conclusions de ces recherches sont connues, je n'en parlerai point et m'occuperai de la partie qui m'intéresse le plus en exposant mes recherches.

L'idée théorique qui m'a servi de guide, comme on peut du reste le déduire par ce que j'ai déjà dit, a été de voir quelles étaient les altérations anatomiques qui pouvaient expliquer le comportement différent, vers l'infection du Bang, des cobayes de contrôle et de celles hyperréceptives. J'ajouterai aussi, qu'étant donnée l'importance que l'infection par le Bang a pris dernièrement par rapport à l'infection humaine, cette question pouvait être en relation directe avec ce que l'on observe sur l'homme et être aussi en relation avec la pathogénèse et le cours clinique de la fièvre ondulante humaine.

J'ai tâché de provoquer la hyperréceptivité dans les cobayes de différentes façons; un premier lot d'animaux fut traité en inoculant à chacun, par voie sous cutanée, un cc. d'une culture sur gélose de Bang vivant, de 36 heures, délayé avec 10 mmc. de solution physiologique. Un mois après j'ai fait la cuti-réaction en me servant, comme antigène, d'une émulsion de bacilles morts contenant à peu près 50 millions de microorganismes par cc. Après 36-48 heures tout au plus, j'ai observé une réaction cutanée assez prononcée, avec des variations plus ou moins marquées selon les animaux. Ètant ainsi assuré que les animaux présentaient un état allergique j'ai divisé ce premier lot en deux groupes.

Le premier groupe (groupe *A*), fut traité en inoculant un cc. d'émul-

sion bactérienne de Bang vivant. Le culture sur gélose de 36 heures (un milliard et demi de germes par cc.); à l'autre groupe (groupe *B*), après avoir fait l'épreuve de stérilisé j'inoculais la même dose de germes tués auparavant en les chauffant à 70°.

Les cobayes du premier et du deuxième groupe accusent l'inoculation des germes, et quelques uns meurent après 36-48 heures: d'autres survivent. On fit l'autopsie des animaux morts spontanément et de quelques uns de ceux qui avaient survécu et qui semblaient avoir surmonté l'infection en les sacrifiant 5-6 jours après l'inoculation.

On établit aussi des contrôles en inoculant un seule dose, toujours la même, de germes vivants à certains animaux (group *C*) et de germes morts à d'autres (groupe *D*), comme il avait été fait pour les animaux des groupes *A* et *B*.

L'étude histologique des viscères des animaux de contrôle est faite en sacrifiant les cobayes après le même nombre d'heures ou de jours comme pour les animaux sensibilisés.

Pour d'autres animaux, au contraire, j'ai obtenu la sensibilisation d'une façon différente. Un groupe de cobayes (groupe *E*), a été soumis à l'inoculation, quotidiennement, par voie sous-cutanée, d'un cc. de culture au gélose de Bang tué par la chaleur dans la proportion de 5 millions de germes par cc. Après 20 inoculations, à peu près, faites de cette façon, j'ai laissé passer presque un mois en surveillant et en contrôlant la cuti-réaction, comme il avait été fait pour les groupes *A* et *B*: ensuite je pratiquais l'inoculation de Bang vivant d'un seul coup et en forte dose en employant pour chaque animal un cc. et demi d'émulsion bactérienne de culture sur gélose, de 36 heures, délayées dans de la solution physiologique dans la proportion de 3 milliards par cc. On soumit au même traitement un autre groupe de cobayes indemnes, pour servir de contrôle.

Tous les animaux du groupe *E* ne moururent pas à la suite de l'inoculation. On fit l'autopsie et l'examen histologique des viscères de ceux morts spontanément et de quelques uns de ceux qui avaient survécu, en les sacrifiant au cours des premiers jours après l'inoculation.

Comme il n'est pas possible de décrire ici en détail les résultats des examens microscopiques des différents viscères, j'ai taché de circonscrire et de synthétiser ici l'examen des capsules surrénales.

Les cobayes de contrôle présentent des lésions du type de celles connues dans les maladies infectieuses de l'homme, et expérimentales, localisées surtout dans les cortex et particulièrement dans la zone fasciculaire: il est question de phénomènes d'atrophie cellulaire, de congestion, d'altérations de la chromaffinité, de la sécrétion lipoïdée du cortex etc. L'intensité de ces lésions est toutefois plutôt modeste.

Pour les cobayes sensibilisées, au contraire, la lésion est beaucoup

plus prononcée: pour certains animaux, même, elle se présente vaste et intense, en arrivant jusqu'à la nécrose hémorragique et colliquative. Les phénomènes de dégénération sont constants pour tous les animaux, ils sont intenses et répandus et regardent surtout la cortex, en s'étendant de la fasciculaire jusque presqu'à la médullaire.

Sur certains animaux on observe aussi des zones nodulaires dégénérées, qui ont l'aspect de formations d'abcès.

Ces lésions des surrénales, du type de celles que l'on observe en pathologie expérimentale, et pareillement aussi sur l'homme au cour de la plus grande partie des maladies infectieuses aiguës, pour ce qui en est des cobayes de contrôle rentrent dans le champ des phénomènes connus et dans le cas que nous considérons ils prennent une intensité inférieure à celle à prévoir.

Pour ce qui est des cobayes sensibilisés, qui avaient été traités avec la même dose employée pour les animaux de contrôle, l'examen des surrénales m'a permis d'observer des faits nouveaux et très intéressants.

Sans prétendre d'en tirer des inductions excessives et par trop hardies, on peut, avec raison peut-être, penser que dans les animaux (cobayes) rendus hyperréceptifs vers le bacille de Bang il se forme surtout, du point de vue anatomo-histologique, des lésions de surrénalite aiguë, produites en grande partie par l'hyperréceptivité même, et qui pourraient être mises en relation avec la pathologie humaine.

En restant toujours dans le champ de l'infection produite par le brucella, cette façon d'agir particulière des cobayes hyperréceptifs et les lésions anatomo-pathologiques que l'on observe sur leur surrénales, pourraient être mises en relation avec l'infection maltaise de l'homme et servir à expliquer:

a) le cours à poussées classiquement caractéristique de cette infection, qui pourrait dépendre d'une série de phases d'hyperréceptivité;

b) l'état d'insuffisance surrénale et d'asystolie qui sont très dangereuses dans les formes chroniques de la maladie de l'homme, et souvent se manifestent cliniquement sous forme de collapsus soudains et mortels que certains auteurs mettent en rapport avec un état d'hypoépinephrie.

En tous cas les observations que j'ai fites pourraient fournir l'explication, en ne donnant aussi la preuve expérimentale, des manifestations cliniques d'hypoépinéphrie que l'on rencontre dans la pathologie humaine.

Institut Sérothérapique de Milan – Laboratoires Scientifiques de la Direction.

Royal Inst. de Pathologie Med. de l'Univers. de Milan.

DADDI G. – **Etudes préliminaires sur la sérothérapie polyvalente des bact. coli.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

La bien connue spécificité sérologique de souche propre à beaucoup des Bact. Coli a toujours constitué un important obstacle à l'institution d'une sérothérapie anticolibacillaire applicable sur une large échelle; et c'est pourquoi l'étude sérologique et immanitaire des Bact. Coli, étant donné son importance dans la pathologie humaine et aussi l'intérêt théorique du sujet, a êtê et se trouve toujours objet de l'attention de nombreux AA.

De toute une série de recherches à ce sujet il résulterait qu'au point de vue sérologique le groupe Coli, tout en n'étant pas unitaire et pouvant même être subdivisé en divers sous-groupes, répondant essentiellement aux diverses propriétés hémolytiques et sucre-fermentants, n'est pas, en réalité, aussi hétérogène qu'on l'a cru pendant longtemps. On a dont admis pour les divers sous-groupes de Bact. Coli l'existence de récepteurs particuliers de type à côté de celle de récepteurs ordinaires caractéristiques d'espèce. La distinction entre Coli non hémolytiques et Coli hémolytiques serait très importante, ces dernières possédant, d'après quelques-uns, une spécialité marquée de type; suivant d'autres, au contraire, la plus grande différence sérologique serait en rapport des aptitudes sucre-fermentants.

Désirant, à mon tour, entreprendre une série de recherches dans le but d'obtenir un sérum anticolibacillaire polyvalent, et étant donné les connaissances actuelles, reportées trés succinctement ci-dessus, sur la sérologie de la Bact. Coli, j'ai cru opportun d'ordonner mon plan de travail de la manière suivante:

1° isolement et identification de diverses souches de Bact. Coli; production des immun-sérums correspondants et essai de leurs activités à travers l'essai du pouvoir agglutinant, soit du côté des souches homologues que de celles hétérologues;

2° analyse des récepteurs des souches Coli à l'examen;

3° éventuelle préparation d'un sérum anticolibacillaire polyvalent au moyen de l'emploi des souches Coli plus aptes et des modalités plus opportunes.

Tandis que la premièré partie du travail est déjà terminée, les autres sont encore en cours; mais il m'a semblé intéressant de faire connaître les résultats obtenus dans cette première série d'expériences préliminaires

***

Les souches Coli qui ont servi pour les présentes recherches ont été isolées, au nombre de 15, de fèces soit humaines (en général d'allaités) soit d'animaux (lapin et cobaye): pour leur identification on a procédé à l'examen morphologique et de la mobilité, ainsi qu'à celui de la résistance au Gram; aux essais classiques sur la fermentation des sucres (glucose et saccharose); à la production d'indole, décoloration du rouge-neutre aux caractères culturaux sur gélatine.

On n'a pas constaté des différences importantes dans le pouvoir sucrefermentant et indoligène des diverses souches, à l'exception de celles ayant les N. 12 et 14 qui montrèrent une aptitude moindre à acidifier les milieux lactosés. On a contrôlé, en outre, le pouvoir hémolytique des diverses souches et, dans ce but, s'est montré préférable pour la netteté des résultats l'ensemencement en eau peptonée + sang défibriné de chien ou de lapin (eau peptonée cmc. 5, globules rouges cmc. 0,10), au lieu d'agar + globules rouges: la lecture des résultats a été faite après environ 14 heures de développement à 37° dans un thermostat, et a révélé la présence de seules 3 souches hémolytiques (N. 5, 6 et 14).

Pour chacune des souches Coli on obtient un immun-sérum, en injectant à un lapin, par voie intraveineuse, trois fois, à la distance de 4 jours l'une de l'autre, cmc. 2 d'une suspension du bacille correspondant (patinoculture sur agar de 24 heures + cmc. 5 solution physiologique; destruction des germes à 55° pendant 30′ dans un bain-marie) et saignant à blanc 10 jours après la dernière injection.

Je ferai observer, incidemment, que les essais d'hémolyses répétés après l'immunisation, essayant les souches hémolytiques avec les globules rouges, défibrinés et non lavés, des lapins correspondants et d'autres de contrôle, n'ont pas montré, en aucune façon, que le traitement immunisant ait provoqué une augmentation dans la résistance des globules rouges.

Les résultats des essais d'agglutination directs et croisés sont exposés dans le tableau à la page suivante.

En ce qui concerne les essais directs il y a lieu d'observer que pour 6 souches le titre agglutinant obtenu dans le sérum homologue n'atteint pas 1:1000. Des autres souches il faut signaler particulièrement le N. 15 agglutiné jusqu'à 1:80.000. Les souches hémolytiques (N. 5, 6 et 14) n'ont pas produit, par rapport aux autres, des sérums à pouvoir agglutinant très élevé.

En considérant les essais croisés et négligeant d'attribuer une signification spécifique aux agglutinations inférieures à 1:100, il ressort que 3 souches (N. 3, 6 et 11) présentent une étroite spécificité d'agglutination,

c'est-à-dire qu'elles ne sont agglutinées que par l'immun-sérum homologue; lequel, au contraire, agglutine également les autres souches. Ces agglutinations de groupe, toutefois, diffèrent d'un sérum à l'autre.

D'autres souches, N. 1, 2, 7, 14 et surtout le N. 15, présentent une plus grande agglutinabilité: viceversa les sérums obtenus avec eux ne présentent pas, sauf peut-être le N. 15, une plus grande polyvalence de groupe. Cette polyvalence, au contrarie, se trouve plus accentuée dans le sérum N. 4, dont la souche correspondante est faiblement agglutinable. Il faut observer également que la Bact. Coli isolée des fèces de lapin (souche N. 9) est très peu agglutinée par les autres sérums.

On a, en conclusion, une différence manifeste dans la manière de se comporter des diverses souches et des divers sérums: l'interprétation de cette différence, à l'état actuel de ces recherches, n'est pas très facile à fournir. Il n'est pas aisé, en effet, de reconnaître pour les Coli à l'examen dans ces expériences, qui, tout en n'étant pas très nombreuses, représentent toutefois un important matériel d'observation, les distinctions en groupes et sous-groupes proposées par d'autres AA. comme explication des diverses propriétés sérologiques que l'on peut rencontrer parmi les Bact. Coli. Il ne serait pas possible, par exemple, de convalider l'affirmation d'*Harada*, à savoir que les souches hémolytiques provoquent, par l'action prédominante des récepteurs de type sur ceux d'espèce, l'apparition d'agglutinine presque exclusivement vers les autres souches hémolytiques: en effet, dans la confrontation des trois souches hémolytiques les sérums correspondants présentent un pouvoir agglutinant réciproque, faible ou nul, quoi qu'il en soit moindre de celui développé par eux envers d'autres souches non hémolytiques.

D'autre part il n'est guère possible de justifier ces résultats avec diverses activités sucre-fermentants, car nous voyons que les Coli N. 12 et 15, qui se distinguent des autres par une moindre aptitude marquée à fermenter la lactose, présentent précisément entre elles, tant comme souche que comme immun-sérum, de très notables différences relativement à l'agglutination.

En continuant suivant le plan de travail préétabli et procédant à l'analyse systématique des récepteurs, actuellement en cours, on pourra très certainement, mettre en lumière, peut-être même mieux qu'avec tout autre investigation, une éventuelle, justifiée, subdivision en groupes des Bact. Coli à l'examen.

BARBONI E. – **Sur la présence de la Gonderia dans les brebis de l'Ombrie.**

(Communication au III ème Congrés de Microbiologie de Milan)

Avant d'exposer quelques considérations à propos d'un hémoprotozoaire du genre Gonderia sur des brebis de différentes localités de l'Ombrie, il me semble qu'il serait plutôt le cas de l'appeler, par analogie, *Theileria mutans ovis*: je me base, en effet, ici, sur les travaux, récents, de Theiler et Graf (1928), de Sergent, de Parrot, de Donatien et de Lestoquard (1929) à propos de la *Gonderia mutans* et de la *Theileria mutans* des bovidés, et sur la classification exacte du microorganisme en question le quel, à cause des aspects morphologiques des gamètes identiques à ceux des formes de l' évolution gamétocyque de l'agent de la pseudo-fièvre de la côte, et des façons de reproduction, que l'on peut logiquement considérer égales à la agamogène et gamogène de celui-ci, lui ressemble de très près.

Il est connu, en effet, que pour l'élément cause de la pseudo-fièvre de la côte, en justufiant l'hypothèse de Brumpt (1924) qu'on ne pouvait accepter la création du genre *Gonderia*, qui comprendrait aussi cet hémoparasite sous le nom de *Gonderia mutans* (Du Toit), hémoparasite qui était au commencement le seul représentant de ce genre et qui selon Brumpt n'était que la *Theileria mutans* (França), ce furent Theiler et Graf qui, après de très sérieuses recherches sur le cycle de l'évolution de cet agent, purent effectivement arriver à démontrer son identité avec l'agent que nous avons cité en dernier lieu, bien qu'au cours de la maladie en question il leur soit aussi arrivé d'observer, très rarement toutefois, quelques corps de Koch. Sergent, Donatien, Garrot et Lestoquard, ont confirmé ces observations, car ils ont constatés, sur des veaux infectés naturellement ou artificiellement avec la *Gonderia mutans*, après leur avoir pratiqué la splénectomie, outre la réapparition d'un très grand nombre de parasites dans le sang, la présence de sphérules granulaires dans les ganglions lymphatiques périphériques.

Or, observent ces Auteurs, ces veaux n'ayant jamais étè infectés avec la *Theileria dispar*, il faut attribuer, sans doutes possibles, les corps de Koch qui y ont été observés au cycle de développement de la *Gonderia mutans*. Il faudra donc conclure, comme l'ont fait Theiler et Graf, qu'il n'y a plus aucune raison pour conserver le genre *Gonderia*, et qu' au parasite en question il est nécessaire de redonner le nom de *Theileria mutans*. En conservant donc la dénomination de *Gonderia ovis*, il ne faut pas oublier que j'entend parler du microorganisme qui rappelle, à cause de ses

différentes manifestations morphologiques, les hémoparasites du genre *Theileria*.

Comme v. Ratz l'a fait sur des brebis hongroises, Schelhase sur celles de l'Afrique Orientale ex-allemande, Bevan et Wenyon sur des brebis de la Rhodésie, Mac Fie sur des brebis de la Nigérie et de la Côte d'Or, Sergent, Parrot, Hillert, souvent, sur des brebis algériennes, Yakimoff sur les brebis de la Transcaucasie, Yakimoff et Paraisky sur celles du Turkestan, Carpano, Martoglio, Stella sur celles de l'Erythrée, j'ai eu l'occasion, d'étudier en Ombrie d'après l'examen de frottis de sang et de parenchymes d'organes (rate, foie, rein), de ganglions lymphatiques et de moelle d'os d'animaux de la race ovine qui ne présentaient aucun signe de maladie et étaient donc cliniquement sains, un pyroplasme morphologiquement identique à celui que les Auteurs nommés avaient observé, et que Lestoquard, en 1924, mettait au nombre *du genre gonderia* en l'appelant *Gonderia ovis*, nom qu'en 1929 il changeait avec celui de *Theileria Recondita*.

Mes recherches m'ont été suggérées par la constatation du microorganisme en question que M. le prof. De Gasperi fit par hasard en examinant des frottis de sang de trois agneaux dont on déterminait, dans le laboratoire de M. le prof. Caradonna, à titre préliminaire, la formule hémoleucocytaire, car ils devaient lui servir à des expériences.

M. le prof. Caradonna, ayant été prié par M. le prof. De Gasperi qui m'avait confié la continuation des recherches, me permit de répéter plusieurs fois l'examen parasitologique du sang sur les agneaux en question, et ensuite, après les avoir tués, celui des organes susdits.

En outre, l'examen sur sang a aussi été fait sur douze agneaux appartenánt à quatre troupeaux (trois par troupeaux), de différentes regions de l'Ombrie, en plaine le long de la vallée du Tibre, et une en colline.

Je ferai aussi remarquer que ces agneaux, tout comme les trois premiers, examinés au courant des mois de mai et juin de l'année passée, 1930, présentaient de nombreuses larves de « Rhipicephalus bursa ».

Pour préparer les frottis je prélevais le sang en piquant les petits vases de la surface intérieure du pavillon de l'oreille, après l'avoir soigneusement lavée, dégraissée avec de l'alcool et essuyée.

Après avoir laissé sécher les frottis en les protégeant de la poussière, je les ai tout de suite colorés par la méthode de May-Grünvald-Giemsa: pour les frottis des parenchymes j'ai adopté la solution de Giemsa seule, non diluée pour obtenir une coloration plus rapide.

En examinant au microscope, par immersion, j'ai constaté dans plusieurs hématies la présence de petites formations, une pour chaque hém., généralement rondes ou ovoïdales, à anneau (macrogamétocytes), dont le diamètre maximum variait de 1 micron à ½, à 2, pourvues d'une cavité

qui en certains cas était même assez vaste, et que le protoplasma entourait, et qui contenaient au centre un grain de chromatine.

J'ai observé qu'aucune de ces formations n'avait des figures de germination ni mérozoitiques.

Mais j'ai remarqué la présence d'éléments ayant la forme d'un petit bâton plutôt mince ou d'une virgule (microgamétocytes), dont la couleur était bleue, et la longueur variable de 2 à 4 micron à peu près, avec une petite masse de chromatine à l'extrémité plus large.

En outre j'ai constaté qu'il y avaient des microgamétocytes d'aspect critidial, avec deux masses de chromatine dont l'une un peu plus petite.

Enfin j'ai observé, me semble-t-il, mais rarement, des figures de bipartition, de tripartition et de quadripartition, formés par des petites masse de chromatine, ayant un diamètre de quelques fractions de micron, peu colorées, disposées à des distances égales entr'elles, c'est-à-dire à forme de triangle ou de croix.

Le pourcentage des corpuscules rouges envahis par l'hémoprotozoaire décrit, variait du 3 au 5 pour cent pour certains agneaux: mais pour la grande majorité des animaux, il était question du 12 au 18 pour cent; la forme généralement était à anneaux. Venaient ensuite, en grand nombre aussi, les formes à bâtonnêt et à virgule: les formes de reproduction gamogène donnée par la division en trois ou quatre éléments étaient rares.

Après avoir fait les observations qu'ont été décrites j'ai tué deux agneaux du groupe des douze, présentant le pourcentage maximum de corpuscules rouges envahis par l'hémoprotozoaire, et je les au soigneusement examinés du côté anatomo-pathologique: j'ai refait ici, comme je l'avais fait précédemment pour l'examen du sang, sur des verres porte-objet, les frottis des parenchymes, spléniques, hépatiques, des reins, des ganglions lymphatiques et de la moelle des os, en les colorant de la façon déjà décrite.

Je ferai observer, tout d'abord, que l'examen anatomo-pathologique de ces deux agneaux, qui, en vie, avaient les muqueuses roses comme tous les autres, ne présentait, macroscopiquement, rien de remarquable: l'aspect, la forme et le volume de leur viscères et de leurs organes était parfaitement normal. Le foie, en particulier ne présentait aucune lésion de distomatose, qui était assez répandue dans la région.

L'examen microscopique des frottis des viscères et des organes, m'a confirmé ce que j'avais vu, précédemment, dans le sang des animaux vivants. Les corpuscules rouges contenaient toujours le microorganisme dont il a été parlé: tout comme les AA. cités, je n'ai jamais trouvé les sphérules de Koch dans les grains fortement colorés en bleu.

***

En pratiquant, par voie intra-veineuse, comme continuation de ces expériences, des injections de *trypanblau* au trois agneaux qui présentaient le pourcentage, très bas, du 3-5% de corpuscules rouges contenant l'hémoprotozoaire qui nous occupe, j'ai fait une observation analogue à celle que Du-Toit fit pour l'Anaplasma et pour la Gonderia Mutans sur une outre espèce d'animaux, les bovidés.

Cet Auteur, en faisant des injections de trypanblau à des veaux-sains et à d'autres guéris d'une infection mixte d'anaplasmose et de pseudo-fièvre de la côte, dans le but de contrôler les recherches de Dias et de Aragao qui ont conduit ces AA. à nier la nature protozoaire de l'Anaplasma, n'observa aucune modification du côté hématologique pour les premièrs, tandis que pour les autres animaux il constata que lorsque les manifestations de la maladie se répétaient les deux parasites étaient de nouveau présents dans le sang.

Il est important de se rappeler ici que les expériences de Du Toit ont démontré que les injections de trypanblau, dans les conditions ordinaires d'experiences, n'ont aucune action sur les animaux domestiques, tandis que, selon Dias et Aragao l'injection de cette substance à un veau a provoqué l'apparition, dans le sang de cet animal, de formations qu'il faut considérer comme de véritables anaplasmes et non pas, comme ces AA. l'ont fait, un produit de déméneration des globules rouges, qui peut être donné par plusieurs poisons hémolytiques. Les observations de Du Toit font donc penser que dans le cas de Dias et Aragao il a été question même du côté clinique, d'un rechute de l'anaplasmose, rechute due à l'action, même très légère, que le trypanblau produit sur l'organisme.

Les trois agneaux que j'étudiais pour compléter les recherches auquelles ils servaient, furent donc soumis, chaque deux jours, à une injection de 50 cc., par voie intraveineuse, d'une solution à l' 1% du produit en question.

En outre, chaque jour, on préparait des frottis, avec le sang de chaque animal, frottis qui étaient colorés d'après la methode May-Grünvald-Giemsa, et examinés de suite au microscope.

Douze jours après la première injection, quand les agneaux avaient reçu 3 grammes de trypanblau, je pouvais remarquer que les érythrocytes présentant la Gonderia avaient considérablement augmenté «de nombre, du 7-8% par rapport à ce qu'ils étaient auparavant.

Au vingtième jour, après que l'on avait inoculé à chaque agneau, en total, 500 cc. de la solution de trypanblau, c'est-à-dire 5 grammes du produit, l'examen des frottis préparés quotidiennement a permis d'observer que le nombre des globules rouges contenant le microorganisme avait toujours augmenté, jusqu'à arriver au 16-20%.

Il me semble bon de faire remarquer que même après avoir inoculé de fortes quantités du produit, je n'ai jamais observé la présence d'hématies, de points marginaux ou de formes anaplasmoïdes: pareillement, après avoir tué ces animaux, dont les viscères et les organes, à l'examen anatomo-pathologique ne démontraient aucune lésion macroscopiquement revélable, je n'ai jamais remarqué la présence de sphérules de Koch.

***

D'après les observations et les considérations que j'ai exposées il me semble que l'on peut, avec raison, conclure: que, en se fondant sur les différents aspects morphologiques, sur la façon dont il se colore, sur sa présence constante dans le très grand nombre de préparés qui ont été faits.

en se fondant aussi sur la présence d'une forte quantité de tiques (larves de Rhipicephalus bursa) dans la toison des agneux, dont le sang le contient,

il faut identifier le microorganisme dont il est question dans cette communication, avec les formations endoglobulaires observées dans les animaux de la même espèce, et que les AA., y ont cités.

Or, n'ayant jamais provoqué, des altérations appréciables, soit du côté clinique soit du còté anatomo-pathologique, sur ces animaux, comme j'ai pu le constater pour mes cas il semble être un hôte innoffensif.

À ce propos il semble donc possible que la race ovine des régions citées a pu s'adapter, par degrès, au cours de plusieurs générations, à ce microorganisme, au point de ne plus en ressentir l'action pathogène primitive.

En fin il ne faut pas exclure que dans le cycle de vie de ce microorganisme, qu'il faut appeler *Theileria mutans ovis*, il soit possible d'observer des corps de Koch dans le sang périphérique et dans les viscères et les organes, comme c'est le cas pour la *Theileria mutans*, agent de la fièvre de la côte des bovidés, bien que dans mes cas, tout comme les AA. que j'ai rappelé, je n'aie jamais pu en voir, bien que j'aie fait un très grand nombre de préparés.

Institut d'Anatomie Patologique
et de Patologie Generale Veterinaire Perugia.

BIBLIOGRAPHIE

Bevan, J. Comp. Path. and. Ther., vol. XXVIII, Part. I, 1916.
Brumpt, Annales de Parasitologie, avril, 1923.
— Revue critique, octobre 1924.
Carpano, Martoglio, Stella, Ann. Ig. Sperim., T. XXIII, pagg. 305-324, 1911.
De Koch and *Quinlan*, Union of South Africa. Department of Agriculture. 11th and 12th. Reports of the Director Veterinay Education an Research. Part I, september 1926 pagg. 254-256 (Pretoria, The Gouvernment Printing, and Stationery Office, 1926).

Dias et *Arago*, Mem. do Inst. Oswaldo Cruz, 1914, T. 6, pag. 231.
Du Toit (1928) « Zur sistematik der Piroplasmosen » (Arch. f. Protistenkunde, Bd. XXIX, f. I, août, pagg. 84-104).
— « On the nature of anaplasma », Union of South Africa. Department of Agriculture. 13 th and 14th Reports of the Director Veterinary Education and Research. Part I, october 1928, pag. 156-184 (Pretoria, The government Printing, and Stationery Office, 1928).
Lestoquard, Bull. Soc. Path. Exot., vol. 17, n. 2, 1924; vol. 18, n. 2, 1925.
Mac Fie, Ann. of Trop. med. a pars., T. VII, f. 3, 14 dec. pagg. 439-468, 2 pl., 1924.
Rodhain, Bull. Soc. Path. Exot., Bd. 9, pag. 95, 1916.
Von Ratz « Ueber die Piroplasmose der Schafe » (Zbl. f. Baet., I abt., Bd. 68, pag. 194, 1913).
Schellhase, Zsch. f. Infek. Kr. d. Haustiere, Bd. 15, pp. 93-97, 1913.
Schilling u. Meyer « Piroplasmosen. Handbuch der pathogenen Microorganismen » (Lieferung 9, Bd. VIII, pagg. 77-82, 1927.).
Sergent « Étude morphologique de piroplasma ((Gonderia) mutans du boeuf » (Ann. Inst. Pasteur, T. 35, pagg. 193-203).
Sergent, Donatien, Parrot et *Lestoquard*, Bull. Soc. Path. Exot., 1929, T. XXII.
Sergent Parrot, Hilbert, Bull. Soc. Path. Exot., T. 15, pagg. 789-792.
— — — Ann. Inst. Pasteur de l'Afrique du Nord, Alger et Tunis, 1923, T. 3, pagine 127-135.
Theiler and Graf « Gonderia mutans or Theileria mutans? » (Union of South Africa Department of Agriculture, 13th and 14th Reports of the Director of Veterinary Education and Research, Part. I, october 1928).
Yakinoff, Bull. Soc. Path. Exot., T. X, pp. 303-311.
— et *Paroisky*, Bull Soc. path., Exot., 1917, Y. 10, pagg. 302-311.
Velu, Mem. de la Soc. des Sciences Naturelles du Maroc, T. II, dec. 1922.
Wenyon, J. Comp. Path. and Therap., 1915, Bd. 28, pag. 60.

TRUFFI G. – **Le développement de germes pathogènes sur les tissus morts.**

(Communication au III.ème Congrès sur Microbiologie de Milan).

Un grand nombre de recherches a démontré que la mort modifie profondément les attitudes d'un tissus ou d'un organe vers un germe pathogène déterminé, dans le sens qu'elle en favorise la conservation, et, en des conditions spéciales, même le développement.

Sans vouloir être complet je rappellerai ici celles qui sont en relation directe avec cette question.

Il y a quelque temps M. Truffi avait déjà démontré que la spirochaeta pallida survit, dans le syphilome d'un cadavre, pendant 56 heures.

Volpino et Fontana ont trouvé, analoguement, que sur des lésions syphilitiques séparées de l'organisme et conservées stérilement, il est possible de démontrer la présence de la spirochaete jusqu'au 20-25ème jour. Ensuite ces AA. ont observé que des lésions syphilitiques contenant un

petit nombre de spirochaetes, lorsqu'on les conserve pendant un certain temps sur des terrains de culture à 37°, démontrent une augmentation très sensible du nombre des germes: cette augmentation commence vers le 4ème-6ème jour et devient très prononcée entre le 15ème et le 20ème.

E. Hoffmann affirme que la spirochaeta pallida se multiplie dans l'organisme après la mort, et que ce fait peut etre démontré sur des foetus hérédo-syphilitiques et sur des fragments de syphilomes de lapin. Il semble que le germe se conserve vital, après la mort de l'hôte, pendant 24 heures au moins et peut-être même pendant quelques jours.

Les expériences de Growazek et de Yamamoto fournissent la même démonstration pour le virus du vaccin. Le sang circulant d'un animal (lapin), en effet, au quel on a inoculé par voie intraveineuse de la lymphe vaccinifère, n'est plus infectant après une heure, mais il peut transmettre l'infection pendant un laps de temps de 24 heures lorsqu'on l'extrait avant que l'heure se soit écoulée et on le conserve stérilement. Ce fait pourrait aussi se vérifier pour les organes, dans lesquels le virus se détruit généralement pendant les premières 24 heures, tandis que si on les conserve dans de la glycérine (pourvu qu'ils aient été prélevés avant ce terme) leur capacité d'infecter se conserve pendant 200 jours au moins.

Casagrandi affirme d'avoir obtenu le développement du virus vaccin sur des cornées de veau et dans des leucocytes.

Hackenthal a obtenu une augmentation du virus vaccin en conservant pendant quelques jours, avec une méthode particulière, le sang d'animaux infectés. Les globules blancs dans lesquels le virus, d'après cet A., se conserverait, pourraient ainsi transmettre plus facilement, à des animaux de contrôle, l'infection de la cornée et celle cutanée.

Cattaneo a modifié, en partie, la méthode de Hackenthal en arrivant aussi à la conclusion que la virus vaccin se développe dans le sang tenu. pendant un certain laps de temps, au thermostate.

On peut aussi observer, pour la lèpre, que le germe pathogène (*Sprecher*, etc.) persiste pendant longtemps dans des petits morceaux de léprome conservés stérilement: il semble aussi qu'en certains cas ces germes se développent (*Shiga, Teniofejewsky*, etc.).

À la suite des recherches de Lumière, de De Vecchi, de Gioielli, de Frugoni, etc. nous savons que pour le bacille de la tuberculose le développement du germe est plus rapide et plus riche sur des fragments d'organes: on peut même se servir (De Vecchi) de ceux pathologiques (tumeurs).

Callerio, tout dernièrement, en suivant la technique proposée par Hohn pour la cultivation de la microbactérie de la tuberculose, affirme que dans les endroits où il avait semé des fortes quantités d'expectorations, des petites colonies de Bacilles de Koch se sont développées dans

les éléments cellulaires mêmes de cette expectoration: ces éléments étaient assez bien conservés et facilement reconnaissables.

Des recherches analogues ont aussi été faites sur l'érysipéloïde. En général la démonstration du germe pathogène de cette forme morbide dans l'homme, n'est pas très fréquente, mais *Bierbaum* et *Gottron* ont trouvé qu'en conservant des fragments de lésions dans des milieux culturaux il est possible d'obtenir une augmentation des bacilles. Ces AA. ont obtenus ces résultats pour le 85% des cas.

Hegler et Huntemüller, en modifiant légèrement cette technique, ont confirmé ces données.

Vicarelli et Guénoit se sont servi du tissu placentaire comme terrain de culture pour différents germes. Mils a réussi à cultiver le bacille du typhus sur de la pulpe splénique. La substance cérébrale a servi à Zim pour cultiver le bacille de la diphtérie, de la peste, et même celui de la tuberculose. Caporali et Girsacava se sont servis du parenchyme glandulaire pour faire développer le bacille du charbon et de la diphtérite.

En semant le b. coli, le b. du charbon et d'autres germes sur de la viande de muscles hachée, et en couservant le tout à la température du thermostate, Rossetti a pu obtenir un développement très abondant de ces germes.

Lawless a démontré, par un travail très récent, que tandis que les formes pathogènes dont on peut généralement certifier la présence dans le pus des lésions sporotrichosiques sont plutot rares, il suffit d'ajouter à ce pus une solution de dextrose et de conserver ce mélange à la température de l'ambient pour se rendre compte que les germes pathogênes se sont considérablement developpés.

En outre, dans ce même pus, séché le long des parois d'une éprouvette à culture on observe que des colonies de ce champignon se développent même hors du milieu.

Outre ces recherches il faut aussi mentionner celles de Foà, Puntoni, Petragnani, Sette, etc,. qui ont réussi à conserver, pendant des laps de temps variables, dans du sang extrait de l'organisme, différentes forme bactériennes (pneumocoque, choléra, typhus, paratyphus A et B, proteus, choléra des gallinacés, leptospire ictéroïde, etc.).

En fin il ne faut pas oublier les résultats obtenus avec les dermatomycétes:

W. Jadassohn avait pu démontrer que des morceaux de peau et d'organes intérieurs d'animaux normaux, enlevés à l'organisme et conservés stérilement se sont démontrés de bons terrains de culture pour l'Achorion Quinckeanum. Les examens histologiques de la peau en ces conditions d'expérience out démontré que le germe avait envahi le malpighien et le derma, c'est-à-dire des zones où l'on ne rencontre jamais en vie, aucun parasite.

En se basant sur les expériences de Jadassohn, et en modifiant les conditions des experiences, Salzberger réussit à demontrer que tandis que dans des animaux inoculés par voie intra-cardiaque avec une émulsion sporulaire der dermatomycètes on n'a jamais pu observer de mycose dans ler organes intérieurs, il suffit de transporter des morceaux de ces organes dans des tubes au gélose Sabouraud, pour que le champignon se multiplie régulièrement et avec fréquence dans une période de temps plutôt longue. Cet auteur a aussi observé, au cours d'une série très courte d'expériences, que le développement du champignon sur des fragments d'organe se produit aussi, même si la conservation du tissu a lieu simplement dans un ambient humide.

Il est donc clairement démontrés que le développement des germes pathogènes est possible sur des tissus et des organes qui ont été éloignés de l'organisme.

Mais ces recherches sur les dermatomycètes, comme toutes les autres que j'ai mentionnées précédemment, n'auraient pas eu de suite, si l'on navait pu demontrer que l'organe perd, avec la mort, les forces antagonistes du développement du parasite, et qu'il prend même les propriétés d'un véritable terrain de culture pour le germe dont, en vie, il empêchait absolument le développement.

Mes recherches sur les dermatomycètes, publieés sur le Giornale Ital. di Dermat., 1930, et tout dernièrement sur le Bulletin de l'Institut Serothérapique de Milan, fasc. 1, 1931, ont confirmé tout d'abord les faits établis par Kogoj, Smolka, Sulzberger. En inoculant, donc, par voie intracardiaque, une émulsion sporulaire de dermatomycètes on obtient des mycoses cutanées aux point qui ont été auparavant traumatisés, tandis qu'ancune condition expérimentale ne peut donner lieu à des mycoses des organes internes.

D'un autre côte, l'inoculation, dans le torrent circulatoire, de matériel sporulaire de dermatomycètes, même en fortes quantités n'a aucune action, du point de vue clinique et immunitaire, si l'on ne produit pas auparavant des lésions cutanées (arrachement des poils, scarifications, applications de chloroforme, etc.). Au contraire, en transportant sur du terrain de Sabouraud des morceaux d'organes intérieurs et de peau de ces mêmes animaux apparemment sains on obtient constamment et pour un temps très long, la reproduction en culture pure du champignon inoculé.

Mais au cours de mes expériences j'ai observé un fait d'une importance bien plus considérable.

Je me suis en effet aperçu que souvent, sur des fragments d'organes intérieurs et de peau transportés sur du terrain de Sabourand, le parasite se développait directement sur le fragment d'organe en en couvrant la surface libre avant de se répandre sur le gélose voisin.

En me fondant sur ces résultats et vu que le parasite se développait même lorsque les fragments de tissu étaient tout simplement conservés dans un ambiant humide sans y ajouter aucun autre terrain nutritif (tubes de Roux avec du papier absorbant humecté d'une solution chlorosodique), j'en ai déduit que non seulement le fragment de tissu avait perdu, avec la mort, toute propriété antagoniste du développement du parasite, mais était devenu un terrain si favorable au développement du germe qu'il était préféré ou du moin égalé à celui cultural de Sabourand, que tout le monde sait être un des plus aptes et électifs.

Les résultats de mes expériences m'ayant permi de faire ces observations, il m'a tout de suite semblé être le cas d'étudier si pour d'autres germes pathogènes présents, ou inoculés, dans l'organisme, il existait aussi cette profonde différence de comportement entre organes et tissus en vie et après la mort.

J'ai réussi pleinement à confirmer mes premierès démonstrations.

Experiences avec les champignons appartenant au genre sporotrichum.

Il est connu que les animaux qui, lorsqu'ils sont jeunes sont réceptifs vers l'infection par sporotrichum (rats, cobayes, lapins, chats, etc.) perdent, en vieillissant, presque complètement cette réceptivité. On sait aussi que le poulet est réfractaire à l'infection par sporotrichum.

J'ai inoculé dans le coeur ou bien par voie intra-veineuse à des animaux qui avaient perdu la propriété de tomber malades d'infection sporotrichosique (cobayes et lapins âgés) et sur d'autres animaux nettement réfractaires vers cette infection (coqs complètement développés), une émulsion sporulaire de sporotrichum De Beurmann, obtenue d'après la méthode indiquée par la Saeves et que j'ai déjà décrite ailleurs.

Aucune lésion de sporotrichose, ni générale ni locale, ni intérieure ni cutanée, ne se produisit sur aucun des animaux inoculés, même après un laps de temps de 5 mois.

Les nécroscopies et les examens histologiques furent en effet complétement négatifs.

Mais si l'on prélevè sur ces animaux cliniquement négatifs, dans le mois qui suit l'inoculation, des fragments d'organes intérieurs que l'on séme stérilement sur des terrains de Sabourand, on remarque que le champignon inoculé se développe en culture pure dans un laps de temps de 5-8 jours, selon l'époque où a été fait le prélévement et la température à laquelle on le maintient (20°, 37°, 40,5°).

Mais le fait le plus intéressant est que le colonie mycotique se dé-

veloppe précisément sur le fragment, le recouvre tout, et ne descend que plus tard sur le gélose où le fragment s'appuie.

Pour le *sporotrichum* il s'est donc produit le même phénomène que j'avais démontré pour le Tr. et le Ach, et qui est confirmé par le fait que le développement du parasite en culture pure se produit de même, et dans le même laps de temps à peu près, lorsque le fragment d'organe au lieu d'être porté sur des terrains de culture, est simplement conservé dans un ambiant humide pour éviter qu'il séche (tubes de Roux avec papier absorbant humecté avec de la solution chlorosodique).

L'examen histologique de ces fragments d'organes qu'ils proviennent des terrains de culture ou qu'ils aient été conservés dans un ambiant humide, démontre l'existance d'une colonie mycéliaire et sporulaire très riche qui couvre la surface extérieuse du fragment, et de formations mycéliaires bien visibles à l'intérieur du fragment même, et plus nombreuses plus on s'approche de la surface. Le champignon n'a jamais l'aspect *à navette* ou ovoïdal qu'il prend généralement dans les foyers sporotrichosiques sur l'organisme vivant, mais présente la forme mycéliaire et sporulaire typiquement égale à celle que l'on observe lorsqu'on l'ensemence sur des terrains de culture habituels.

Les résultats de cet examen histologique sont d'autant plus intéressants qu'ils sont les mêmes pour les fragments conservés dans un ambiant humide, où le tissu même forme l'unique terrain de culture.

On démontre donc aussi histologiquement que la même tissu ou le même organe se comportent d'une façon diférente vers un germe déterminé, pendant la vie ou après la mort.

Les résultats obtenus sont en parfait contraste avec la negativité absolue des recherches sur les animaux vivants.

Experiences avec le charbon.

Les mêmes phènomènes se sont répétés avec les bacilles du charbon.

Il est connu que les poulets, en des conditions normales, sont réfractaires à l'infection charbonneuse.

J'inoculai par voie intraveineuse, à une série d'animaux, une suspension de bacilles du charbon provenants d'une culture fraîchement ensemencée.

Les animaux étaient ensuite sacrifiés à des intervalles progressifs, d'une heure à 15 jours. Les contrôles furent laissés en vie pendant plus de deux mois.

Les animaux sacrifiés ne présentaient jamais à l'autopsie, aucune lésion, ni la présence de germes révélables par des frottis ou bien sur des sections.

Mais si, sur ces animaux, on prélève stérilement des fragments d'organes et si on les sème, comme pour les expériences précédentes, sur des terrains de culture (gélose-bouillon) on remarque que la culture pure du germe inoculé se reproduit plus ou moins rapidement (12-36 heures) selon la température à laquelle on les conserve (20°-37°-41°), et qu'elle recouvre le fragment et se répand dans le terrain. L'observation si le développement a lieu d'abord sur le fragment ou bien sur le terrain qui l'entoure présente une certaine difficulté, car le germe se développe rapidement. Mais, en tous cas, avant que la patine de la culture devienne visible sur le gélose, des frottis préparés avec ces fragments démontrent la présence d'un grand nombre de bacilles du charbon.

Sur les parties conservées simplement dans un ambiant humide, comme pour les expériences avec le sporotrichum, on observe pareillement que le germe se développe en culture pure qui prend l'aspect de petites gouttes tondes, brillantes, nacrées, qui couvrent la surface extérieure du fragment et qui sont bien visibles avec l'aide d'une loupe ou d'un microscope à faible agrandissement: en en préparant des frottis on reconnait que ces gouttes sont des colonies isolées du parasite. En prélevant du matériel à ces petits centres de culture on reconnait les bacilles typiques du charbon, qui peuvent produire la mort des cobayes dans les 24 heures lorsqu' ils proviennent de fragments d'organes d'animaux infectés depuis peu de temps.

Les résultats de l'examen histologique de ces fragments d'organes sont évidents. On observe, en effet, à la surface du morceau, de véritables zooglées de bacilles en culture pure, et ayant un aspect filamenteux. On trouve aussi des amas de bacilles à l'intérieur du fragment, et leur aspect est typique des bacilles charbonneux. Tout comme pour les *Spor.*, les *Ach.* et les *Trich.* le développement est ici plus abondant à la surface, tandis qu'il est difficile de trouver des formes pathogènes dans les parties centrales de l'organe.

Il faut aussi observer que le développement du germe se borne à la surface libre du fragment, tandis qu'on ne trouve même pas des germes isolés sur celle qui s'appuie sur le papier humecté.

Il est indispensable, enfin, de faire encore remarquer que le développement du parasite s'est aussi produit sur des fragments provenant d'animaux inoculés depuis 15 jours, bien qu'en inoculant ces germes à des cobayes il n'était plus possible de provoquer la mort de ces animaux, à moins de rendre ces germes à nouveau virulents. C'est-à-dire que le développement sur le fragment de tissu conservé dans un ambiant humide a aussi eu lieu pour des germes fortement atténués, à cause du long séjour dans l'organisme d'un poulet, et certainement peu nombreux.

On peut tirer quelques déductions d'après les faits que j'ai décrits et, me semble-t-il, aussi suffisamment documentés.

Avant tout on peut affirmer qu'il existe une différence très nette entre le comportement des tissus du même animal en vie et après la mort, vers un germe déterminé. En effet certain germes, qui dans les cas que j'ai étudié étaient des sporotrichum et des bacilles du charbon, n'ont pu se développer « in vivo », à cause des conditions particulières même pas dans un laps de temps de mois; mais ils se multiplient rapidement et avec abondance à peine l'organe d'un animal inoculé précédemment est séparé de l'organisme, dans certaines limites de temps, et est conservé stérilement.

Le tissu mort n'oppose donc plus aucune résistance au développement du germe mais il le favorise comme pourrait le faire un veritable terrain de culture, si bien qu'il est préféré, ou du moins égalé a ceux que l'on considère comme les plus favorables à la cultivation de ce germe.

Ce fait est confirmé par le développement des parasites sur les fragments provenant des mêmes organes du même animal, simplement conservés dans un ambiant humide et sans qu'on y ait ajouté aucune substance nutritive.

Pour des animaux totalement réfractaires vers une infection déterminée, la mort du tissu fait cesser toute action antagoniste comme organe et comme terrain, et permet au germe pathogène de se développer abondamment en culture pure.

Les faits décrits se produisent aussi lorsque les germes présents dans l'organisme ne sont pas très nombreux et même lorsque leur virulence est atténuée, comme les recherches sur le charbon (animaux inoculés 15 jours auparavant) le démontrent.

En dernier lieu, le fragment d'organe ne suit plus, après la mort, le comportement des tissus vers le germe, mais prend, au contraire, les caractéristiques d'un terrain de culture, vu que l'aspect que le germe prend en s'y développant est identique à celui de ses cultures et ne ressemble pas à celui que l'on observe sur les lésions de l'organisme vivant.

J'ajouterai aussi que l'on obtient les mêmes résultats avec des germes asporigènes. J'ai pu démontrer ce fait pour les staphylocoques, et le collègue Balbi l'a fait pour le bacille du typhus.

Il est rationnel d'espérer, au point où en sont ces recherches, que les résultats obtenus jusqu'à'aujourd'hui se répéteront pour d'autres germes, et qu'il soit possible, en se servant de ce moyen si simple, d'obtenir le développement et peut être la culture de germes pathogènes qui n'ont pu être jusqu'ici cultivés avec le technique bactériologique ordinaire.

Les recherches à ce propos continuent dans notre Clinique.

Clinique Dermosyphilopathique de l'Université Royale de Padoue.

BIANCALANA L. et BOGETTI M. – **Sur l'étiologie de l'hydrocèle essentiel.**

(Communication faite au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

On classifie comme hydrocèles essentiels les cas d'épanchement de sérosité de la vaginale du testicule, pour lesquels on ne peut observer ni cliniquement ni avec l'aide d'une opération, aucune altération de la tunique vaginale, de l'épididyme et du testicule.

On a fait de nombreuses hypothèses a fin d'expliquer la pathogènèse de ces formes. On a voulu les faire dépendre de maladies infectieuses aiguës comme la rougeole et le rhumatisme articulaire; et des épididymites sub-aiguës latentes de la queue.

Wolkmann et Genzmer ont pensé à des contusions, Monod et Terrillon affirment que de fréquents petits traumas peuvent irriter la vaginale et provoquer l'épanchement sans laisser des traces visibles sur le testicule et sur l'épididyme, Morgagni, Gosselin, et Duplay ont attribué une importance étiologique aux petites cystes de l'épididyme et un grand nombre d'Auteurs, vue la présence de spermatozoaires dans le liquide, ont soutenu l'hypothèse de la rupture des cystes de l'épididyme.

On a cru, tour à tour, que la blennorragie, la syphilis et la tuberculose étaient la cause des hydrocèles essentiels. La blennorragie à cause des données anamnestiques: la syphilis par la positivité de la Wassermann et à cause des caractères de l'affection qui, d'après plusieurs Auteurs, devrait être placée parmi les périviscérites syphilitiques, la tuberculose à cause des épreuves biologiques et des examens bacillaires qui quelques fois sont positifs.

Les caractères cytochimiques du liquide et ceux histologiques de la vaginale prouvent et confirment la nature inflammatoire de la maladie: Torraca en démontrant que les pouvoir d'absorbement de la vaginale est altéré, en donna une nouvelle preuve.

L'hypothèse de l'origine tuberculeuse s'est toujours plus répandue depuis 1903, mais n'a pu être généralisée à la totalité des hydrocèles. La nature tuberculeuse de plusieurs hydrocèles essentiels fut démontrée par Poncet, Tuffier, Jousset, Delbert, Cartier et Godard, Battaglia. Perin-Widal, Ravaut, Lemierre, Barrion, Cade et plusieurs autres, en inoculant des cobayes, ont obtenu des resultats négatifs.

En examinant les cas décrits en littérature on remarque que la majorité des cas qui ont fourni un résultat positif pour la tuberculose ne présentaient aucune trace de lésions spécificques de la vaginale, et l'épreuve bacillaire était faiblement positive.

Souvent ces bacilles ne suffisaient pas à rendre la cobaye tuberculeuse, ou bien ne provoquaient que des tuberculoses locales. Il est donc évident qu'il était question d'une tuberculose peu virulente, comme celle provoquant certaint épanchements pleurétiques et articulaires: il est difficile de mettre en évidence cette tuberculose on se servant de l'épreuve biologique habituelle.

La découverte, toute récente, du virus tuberculeux filtrable a permis de démontrer la nature tuberculeuses de certaines formes pathologiques, pour lesquelles on l'avait déjà douté mais qu'on n'avait pu démontrer.

Les connaissances que nous possédons aujourd'hui ne permettent plus de nier la nature tuberculeuse d'un produit organique dans lequel il n'est pas possible de démontrer la présence de bacilles et qui ne provoque pas les lésions classiques même plusieurs mois après avoir été inoculé à des cobayes. On a effectivement démontré que les filtrés de cultures tuberculeuses et que les lésions, dont on doute la nature tuberculeuse, mais ne contenant pas de bacilles de Koch, contiennent des formes acido-résistantes qui provoquent, dans des cobayes, une infection différente de la tuberculose classique. Les expériences ont aussi démontré qu'il est possible, en certains cas, d'augmenter la virulence du virus filtrable au point de le rendre nouvellement apte à provoquer les lésions de la tuberculose. Ces résultats diminuent de beaucoup la valeur des résultats négatifs pour la tuberculose que plusieurs Auteurs ont obtenu en faisant simplement la recherche des bacilles dans le liquide de l'hydrocèle ou bien en inoculant des cobayes. Il est donc très intéressant de contrôler ces résultats avec l'aide des connaissances dernièrement acquises. Les recherches à ce propos sont très peu nombreuses: Saenz à démontré que dans le liquide d'un hydrocèle d'un malade que l'on doutait être tuberculeux, étaient présents des bacilles de Koch, en les rendant tuberculigènes par trois passages dans des cobayes.

Le but de nos recherches a été de porter une contribution à l'étiologie de l'hydrocèle essentiel: nous avons, par conséquent, laissé de côté l'examen des hydrocèles d'individus tuberculeux, ou que l'on doutait tels.

A fin de pouvoir certifier, en presence de lésions éventuelles, l'action du virus filtrable et de pouvoir la distinguer d'un infection légère due à des bacilles, nous avons fait ces recherches en série double, c'est-à-dire en injectant les liquides des hydrocèles et les filtrés correspondants.

Recherches personnelles. — Ces recherches furent faites sur dix liquides d'hydrocèles provenant d'individus d'âge différent et sur lesquels l'affection s'était manifestée à des époques différentes (de quelques mois jusqu'à huit ans) et avait aussi pris des dimensions différentes.

Le diagnostic clinique d'hydrocèle essentiel a toujours été confirmé par l'intervention chirurgicale.

La réaction de Wassermann, faite sur les liquides des hydrocèles a été positive pour trois cas.

TECHNIQUE DES RECHERCHES. — On prélevait de 50 à 80 cc. de liquide dont une partie était centrifugée et l'autre filtrée.

La filtration était faite par aspiration avec un appareil Martini en maintenant une dépression de 60 cm. de Hg, à peu près, pendant 15'-30'.

Nous nous sommes servis de Cougies Chamberland L III, contrôlées avant l'usage et stérilisées à 120° pendant 30'. Chaque Cougie a servi pour deux filtrations. On a contrôlé la stérilité du filtré en y ajoutant auparavant quelques öses de prodigiosum ou de staphylocoque aureus et en semant ensuite sur bouillon et gélose.

En général nous nous sommes servis de cobayes mâles pour éviter des erreurs en les pesant.

Les animaux étaient pesés avant l'inoculation et ensuite périodiquement chaque 10 jours.

Nous avons inoculé, par voie endopéritonéale, 5 cc. de la partie centrifugée de chaque liquide à un cobaye et 5 cc. de la partie filtrée à un ou deux autres cobayes. Après un certain laps de temps on sacrifiait les animaux, et on leur pratiquait l'autopsie: on prélevait alors les lymphoglandes, spécialement les trachéo-bronchiales, les lumbo-aortiques, et les mésentériques qui étaient réduites en bouillie avec des petites morceaux de rate, de foie et de poumon. On inoculait le tout dans le péritoine, ou dans la région inguinale ou axillaire d'autres cobayes. Après avoir sacrifié ces animaux on en prélevait à nouveau les organes en question et, en plus, les glandes de la région où l'on avait pratiqué l'inoculation, dans le but de les inoculer à d'autres cobayes.

Pour abrèger nous rapportons ensemble les résultats obtenus avec l'inoculation des liquides des hydrocèles et des filtrès correspondants, car ils sont très semblables.

PREMIER PASSAGE. — En total, nous avons inoculé 25 cobayes.

Pas un des animaux n'a succombé spontanément: ils se sont tous conservés en très bonne santé, et leur poids à augmenté de 40 à 140 gr.

On les sacrifia de 30 à 60 jours après l'injection.

L'autopsie a démontré: que l'état de nutrition était très bon, la graisse abondante, et que les viscères et le péritoine ne présentaient aucune lésions tuberculeuse.

Les lymphoglandes étaient normales, et nous n'avons jamais observé qu'elles fussent diffusément grossies. Ce ne fut que pour un petit nombre

de cas que les glandes, trachéo-bronchiales se sont présentées un peu tuméfiées: mais ce fait ne nous a pas semblé excéder la normalité. Les frottis faits avec les glandes plus volumineuses ont été considérés négatifs pour les bacilles acido-résistants après un long examen de 30 minutes.

DEUXIÈME PASSAGE. — En total nous avons inoculé 20 cobayes.

La période d'observation a duré de 40 à 60 jours.

Tous les animaux (moins un) ont augmenté de poids, selon une moyenne de 40 gr. Pour certains cas on a observé la formation d'un petit abcès au siège de l'inoculation. Les inoculations axillaires et inguinales ont produit un léger grossissement des glandes régionales. Nous n'avons jamais observé d'adénopathies généralisées, ni des glandes dures ou caséeuses. Aucune lésion tuberculeuse aux viscères.

Les longues recherches sur un grand nombre de frottis des glandes et du pus, n'ont jamais fourni des résultats positifs pour les bacilles acido-résistants.

TROISIÈME PASSAGE. — On a inoculé et examiné 20 cobayes.

La période d'observation a été de 30 à 40 jours. Dixhuit cobayes ont aumenté de poids, en moyenne de 30 gr. Deux cobayes, inoculées avec les filtrés ont vu diminuer respectivement de 50 gr. et de 110 gr. leur poids primitif.

L'examen après l'autopsie a fourni, pour ce passage, les mêmes résultats que pour ceux précédents. Les tuméfactions des glandes, très légères toutefois, que nous avons observées sur des cobayes de ce groupe, n'étaient pas plus prononcées que celles observées lors du premier et du deuxième passage.

En contrôlant les resultats des autopsie des trois cobayes qui représentaient la réinoculation du même matériel, nous avons remarqué que les cas de glandes plus volumineuses n'avaient aucune correspondance.

RÉSUMÉ DES RECHERCHES. — Nous avons inoculé et ensuite réinoculé jusqu'au troisième passage, un total de 65 cobayes, avec les liquides et les filtrés de 10 hydrocèles sûrement essentiels. Les examens, après l'autopsie, n'ont jamais permis de remarquer la présence de lésions classiques de la tuberculose ni de celles du virus filtrable. Les frottis ont aussi toujours été négatifs pour les bacilles acido-résistants.

Ces résultats bien qu'ils ne nous permettent pas de exclure la tuberculose dans la pathogénèse de l'hydrocèle essentiel, nous permettent de la considérer plutôt rare.

SEGRE S. – **B. coli hémolytique et chlorure de lithium.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Klieneberger, et avant lui d'autres Auteurs (Hadley, Fontes, Löhnis, etc.) ont fait remarquer les modifications morphologiques, et, en partie, aussi tinctoriales, aux quelles le B. coli est sujet lorsqu'il est cultivé sur des terrains contenant certains sels, et spécialement du chlorure de lithium. On connait aussi le parallélisme morphologique existant entre les altérations que ce sel produit et celles provoquées par l'action d'un agent bactériophagique actif sur ce germe au commencement de la lyse.

D'un autre côté il a été récemment démontré qu'un agent lytique possédant une activité assez prononcée peut, en certains cas, conférer à des souches de B. coli, un pouvoir hémolytique. J'ai fait les recherches décrites ci-dessous, dans le but de me rendre compte si, outre le parallélisme existant entre chlorure de lithium et pouvoir lytique, il se produisait des phénomènes analogues dans le champ hémolytique, toujours par rapport au B. coli.

Tout d'abord on sema à titre de contrôle des souches de B. coli (20) non hémolytiques, faisant partie de la collection de l'Institut et isolées généralement des excréments ou bien d'eaux superficielles, sur des plaques de gélose au sang (celui ci dans la proportion du 5%), et ensuite sur du gelose au sang contenant l'1% de chlorure de lithium (pH 7,5): le sang, qui était auparavant défibriné provenait de cobayes ou de chevaux. À part les altérations, bien connues d'ailleurs que produit le sel en question on ne put jamais rien observer qui put faire, même lointainement, penser à une hémolyse. D'autres part, ayant à ma disposition, au moins une dixaine de souches de B. coli, hémolytiques, et dont l'activité hémolytique était plus évidente lorsqu'elles étaient cultivées sur du gélose au sang de cobaye plutòt que sur sang de cheval, j'ai voulu en étudier le comportement par rapport au chlorure de lithium et au chlorure de calcium; ce dernier était ajouté au gélose dans la proportion du 0,04%. J'ai pu observer, de cette façon, que tandis que le chlorure de calcium, du moins dans ces proportions, n'avait aucune influence sur le pouvoir hémolytique du B. coli, et il semblait même qu'en certains cas il en accentuait le pouvoir, le chlorure de lithium, au lieu, empêchait constamment cette particulière activité des germes: en outre, toutes les souches de B. coli cultivées sur du gélose au sang en présence du sel en question et transplantées ensuite sur du gélose au sang simple, ne purent plus reprendre leur activité hémolytique, qui pourtant était auparavant très évidente, même en continuant les transplantations sur du gélose au sang simple, jusqu'au

5ème-6ème passage. Il s'en suit que l'action du chlorure de lithium sur la cellule bactérienne comparée à celle d'un poison qui y penètre, altère, dans notre cas, les germes non seulement du côté morphologique, mais unit aussi d'une façon constante aux manifestations de quelques unes de leurs activité particulières.

LATTES L. – **Les variations quantitatives des propriétés groupe-spécifiques.**

(Relation au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

1. – Différences et variations quantitatives dans les substances groupe-spécifiques.

Comme tout le monde sait, les différences individuelles qualitatives des sangs humains indiquées par les isoréactions qu'on nomme maintenant groupe-spécifiques, avaient été tout d'abord considérées d'origine morbide, c'est-à-dire de nature contingente et transitoire.

Ce n'est qu'en second lieu qu'on a reconnu à ces propriétés une fixité qualitative et une nature constitutionelle strictement héréditaires.

Malgré les observations apparemment divergentes on considère comme une vérité scientifique incontestable, l'affirmation que le groupe sanguin, caractère individuel tout à fait idiotypique est qualitativement invariable pendant toute la vie.

Dès les premières études sur ce sujet on a remarqué que les isoréactions qui donnent lieu au groupe sanguin ne sont pas quantitativement équivalentes chez les différents individus du même groupe. Il y a des *différences* quantitatives. Ces *différences* peuvent dépendre de deux ordres de causes qui ont été depuis longtemps prises en considération.

On a pensé que ces différences sont elles mêmes de véritables et réels caractères individuels, c'est-à-dire idiotypiques, sur lesquels on aurait pu fonder une exacte différenciation entre les individus appartenant au même groupe.

Devant cette opinion et en antagonisme avec elle, il y en a une autre selon laquelle les *différences* quantitatives sont para-typiques, c'est-à-dire dépendent des *variations* que les propriétés groupe-spécifiques de chaque individu peuvent subir sous l'influence de circonstances extrinsèques variées.

Etant donné que plusieurs de ces circonstances ont été aisément et sûrement identifiées, la plupart des auteurs ont admis que les différences quantitatives observables sont surtout l'expression des variations individuelles contingentes.

La chose cependant est bien loin d'être décidée exclusivement en ce sens. Des facteurs constitutionnels influencent certainement l'activité des agglutinogènes aussi bien que des agglutinines.

En ce qui concerne les agglutinines, les remarques de Bais et Verhoef semblent démontrer qu'il peut y entrer le facteur de l'origine ethno-anthropologique, puisque l'intensité de pouvoir d'agglutination des sérums des Malaisiens est résultée considérablement supérieure à celle des Européens. Ce n'est pas là une démonstration incontestable, mais elle rend très probable la nature constitutionnelle de ces différences.

Elle résulte encore plus clairement à l'égard des agglutinogènes.

Dès 1924 j'avais démontré que dans le groupe A et (A B) il y a deux variétés qu'on distingue par leur sensibilité à l'agglutination, leur pouvoir absorbant, leur activité antigène, quantitativement différents. Suivant les nombreuses recherches de Thomsen et de ses élèves il résulte que ces différences ne sont pas contingentes, mais dépendent d'un facteur d'intensité héréditaire mendélien; de sorte que dans le groupe A (et A B) qui réagit toujours avec l'unique agglutinine anti-A, on peut distinguer deux sous-groupes constitutionnels: A fort et A faible (indiqué par A').

Il y a donc dans les groupes A et A B des différences dans l'intensité agglutinogénique qui ne dépendent pas de variations. Sans doute à ces différences originaires peuvent se superposer des variations qui les augmentent ou les diminuent.

L'étude des variations quantitatives des agglutinines et des agglutinogènes qui peuvent se manifester chez le même individu, est devenue plus intense dans ces derniers temps.

L'intérêt de ces recherches est double.

Les substances groupe-spécifiques qualitativement déterminées par l'hérédité, liées intimement à l'organisme, constituent des produits d'élaboration spécifique de la plus intime activité cellulaire.

D'après leur abondance plus ou moins grande dans plusieurs circonstances, on peut espérer d'acquérir des éclaircissements concernant l'activité ou la réactivité biologique de l'organisme en général, et de certains systèmes en particulier, en pénétrant ainsi plus profondément dans la physiologie et dans la pathologie des substances groupe-spécifiques.

Mais il y a un autre intérêt moins générique et plus immédiatement concret. Sans aucun doute il est arrivé que des variations quantitatives extrêmes simulassent des conditions qualitatives déterminées.

Dans la littérature on a plusieurs documents concernant des cas dans lesquels le groupe sanguin a été faussement assigné parce que les « réactifs » agglutinine et agglutinogène, mis en présence, se trouvaient en relation quantitative non appropriée.

Cela a eu lieu surtout quand on a procédé à la détermination quali-

tative du groupe sanguin, en se basant seulement sur les agglutinogènes ou, plus rarement, sur les agglutinines; ce qui a produit de remarquables inconvénients dus à l'incompatibilité dans la transfusion.

Mais alors même que l'examen a été correct et fait avec les deux preuves inverses, on est quelquefois resté en doute sur la nature qualitative ou quantitative d'un résultat déterminé. Cela a une valeur particulière pour les recherches dans le champ de l'hérédité, au point que dans certains cas on a dû poser la question si des *qualités génotypiques dominantes* pouvaient être *phénotypiquement non révélables*: question qui présente une « contradictio in adjecto » (c'est-à-dire celle d'une propriété *dominante latente*), dans le cas où la latence n'aurait pu être interprétée par l'hypothèse d'une extrême faiblesse quantitative.

Cela a eu lieu dans la réalité, par ex: dans la famille décrite par Laguna.

L'étude des variations quantitatives peut donc porter à la résolution de questions doctrinales et pratiques d'une grande importance.

2. — Difficultés techniques des recherches quantitatives.

Cette étude heurte préliminairement contre une grande difficulté qui doit toujours être considérée lorsqu'on veut en apprécier les résultats.

Elle consiste dans l'incertitude des déterminations quantitatives des propriétés groupe-spécifiques.

Avant tout, on n'a pas encore envisagé la possibilité d'obtenir des valeurs numériques absolues.

Les réactions groupe-spécifiques comprennent toujours deux variables: l'intensité d'action des sérums groupe-spécifiques (agglutinants) et la sensibilité des globules rouges ou des agglutinogènes relatifs; et nous ne savons pas rapporter l'une ou l'autre à des points de départ fixes.

Toutes les recherches quantitatives ont donc une base conventionnelle ou arbitraire; c'est-à-dire qu'on établit le pouvoir des sérums par rapport à certains globules, et la sensibilité des globules par rapport à certains sérums.

Quoique les valeurs obtenues soient purement empiriques, elles peuvent donner un bon fondement doctrinal, lorsqu'il s'agit de comparer quantitativement différents sérums ou globules titrés simultanément.

Mais lorsqu'il s'agit de suivre pendant un certain temps les variations quantitatives d'un certain sang, la base doctrinale devient bien plus labile; car nous ne sommes pas sûrs que les « réactifs » soient restés immuables pendant ce temps, et nous pouvons tout au plus le supposer; les moyens nous manquent pour nous en assurer, et nous devons procéder sur la base de simples présomptions.

A côté de cette difficulté intrinsèque, nous en avons une autre de nature technique, aujourd'hui encore bien grave, mais qu'on peut espérer de vaincre. La technique habituelle du titrage ne donne pas de résultats rigoureux et constants: au contraire elle présente des divergences remarquables, alors même qu'elle est pratiquée dans les conditions apparemment les plus sûres.

Cette technique consiste, dans presque toutes les recherches systématiquement exécutées jusqu'à présent, dans la détermination de la dilution limite à laquelle les sérums à examiner agglutinent les globules text, et réciproquement la dilution limite à laquelle les sérums-text agglutinent les globules à examiner.

TITRES DÉTERMINÉS PAR PLUSIEURS CHERCHEURS SUR LES MÊMES SÉRUMS ET GLOBULES

Sérum	Fischer	Frouchen	Kossovitch	Landsteiner	Lattes	Laubenheimer	Sachs	Schiff	Streng	Thomsen	Witebsky
1) O anti-*A*	64	64	64	128	128	64	256	64	64	64	128
O anti-*B*	**32**	**32**	**32**	**64**	**64**	**64**	**128**	**32**	**64**	**32**	**128**
2) O anti-*A*	512	512	128	512	1024	512	1024	512-1024	128	512	1024
O anti-*B*	**128**	**64**	**32**	**128**	**128**	**128**	**128**	**128**	**128**	**64**	**128**
3) *A* anti-*B*	64	64	32	64-128	64-128	64	128	64	64	64	128
4) *A* anti-*B*	**64**	**64**	**64**	**64**	**128**	**128**	**128**	**32-64**	**32**	**32**	**128**
5) *A* anti-*B*	1024	1024	256	512	1024	2048	2048	1024	256	2048	1024
6) *A* anti-*B*	32	32	32	32	64	16	64	64	16	16	64
7) *A* anti-*B*	**128**	**128**	**64-128**	**64**	**128**	**64**	**512**	**128-256**	**32**	**64**	**512**
8) *B* anti-*A*	128	128	64-128	256	512	128	256	512	64	256	512
9) *B* anti-*A*	**16**	**8**	**32**	**16-32**	**16**	**16**	**32**	**16-32**	**16**	**8**	**32**
10) *B* anti-*A*	**256**	**256**	**64**	**256**	**512**	**512**	**512**	**256**	**128**	**1024**	**512**
*5) *A* anti-*B*	512	1024	256	512	1024	512	2048	1024	256	512	512

Suspensions globulaires en commun pour tous les chercheurs. Dilution des sérums préparées, au contraire, par chacun d'eux.

Dans les épreuves avec *, les dilutions progressives ont été préparées en forte quantité par un seul chercheur et distribuées à tous. Chacun d'eux s'est limité à faire les mélanges avec les globules et, ensuite, la lecture.

Naturellement la progression des dilutions est purement arbitraire: quelques auteurs ont adopté une progression arithmétique (suivant plusieurs raisons), d'autres une progression géométrique, le plus souvent avec la raison 2 (dilution 1 : 2; 1 : 4; 1 : 8;.... 1 : 1024, etc).

Cette dernière modalité a été officiellement prescrite par le Bureau de standardisation des sérums de la Société des Nations.

Mais il serait complètement indifférent de se servir d'un système ou de l'autre, si les résultats des déterminations étaient rigoureux.

Or, l'expérience collective réalisée au mois de Juillet 1930 à Paris par onze des plus compétents chercheurs (Fischer, Freuchen, Kossovitch, Landsteiner, Lattes, Laubenheimer, Sachs, Schiff, Streng, Thomsen, Witebsky) avec les mêmes sérums et les mêmes suspensions globulaires a montré qu'on parvient certainement à une connaissance quantitative de l'activité agglutinante de chaque sérum, mais qu'il s'agit de valeurs largement approximatives *dont les rapports réciproques ne sont pas même constants pour tous les expérimentateurs* (voir le tableau).

On a cherché de mettre en évidence les raisons des divergences, mais tout considéré, on a dû constater que le degré d'uniformité obtenu n'est pas encore suffisant et qu'il faut continuer les études pour obtenir des titrations satisfaisantes.

On a proposé d'autres critériums tout à fait différents de la détermination de la dilution-limite, et précisément les suivants; comptage des globules rouges restés libres dans les différents essais pratiqués d'une façon constante (Isaacs, Price-Jones); 2) mesure de la quantité de globules rouges qu'il faut ajouter aux sérums agglutinants pour que l'agglutination soit complètemente empêchée (Jervell); 3) mesure photométrique de la turbidité du mélange globules-sérum, ou au moyen du photomètre graduel de Zeiss (Wellisch) ou avec les méthodes de photométrie électrique, selon Moll (Boehle).

Ces méthodes sont restées jusqu'à présent à l'état d'essais et n'ont pas eu d'applications d'une certaine étendue; cependant elles méritent d'être approfondies en considération des médiocres résultats obtenus avec les méthodes usuelles.

En toute autre direction M. Schiff, dans ses tentatives de doser la substance groupe-spécifique dans les urines (dont on parlera ensuite), déterminait la moindre quantité de substance (exclusivement A) capable d'inhiber un système hémolytique déterminé contre les globules de mouton. Jusqu'à présent cette méthode s'est révélée tout à fait grossière, car elle peut donner très facilement des écarts de 100%.

Ces considérations préliminaires concernant le rendement des méthodes quantitatives, étaient nécessaires. Car tous les résultats auxquels on est parvenu à l'égard des variations des substances groupe-spécifiques (dont quelques-uns sont d'importance indiscutable) doivent être interprétés à la lumière de la relativité des moyens d'investigation utilisés jusqu'à présent.

3. – Variations artificielles.

Je ne rappelle que pour la forme les variations artificielles, qu'on constate dans les substances groupe-spécifiques en dehors de l'organisme. Elles ont été étudiées surtout à l'égard des agglutinines (à part les tra-

vaux plus anciens, voir ceux plus récents de Mino et Gedda, Palmieri, Siracusa; j'ai moi-même plusieurs données encore inédites). On constate que le vieillissement (aseptique aussi bien qu'antiseptique) le chauffage, la putréfaction (sans parler des influences chimiques destructives) diminuent graduellement le titre des anticorps jusqu'à le rendre nul.

Pour les antigènes il semble que la même chose ait lieu, mais dans une mesure moindre, étant donné leur plus grande résistance; des titrations systématiques manquent à l'égard de l'effet du temps et de la putréfaction (v. Beöthy, Weidemann).

On a étudié plus soigneusement le problème de la diminution du titre d'agglutinabilité après lavage des globules rouges. On avait affirmé (Schütze-Wöhlisch, Hallauer) que le lavage soustrait aux globules l'agglutinogène, jusqu'au point de l'en priver complètement. Gedda et Pecorella, par des titrages ont montré qu'il n'y pas de soustraction totale, pas même lorsqu'on secoue les suspensions et qu'on se sert d'une solution physiologique lécithinée; mais que bien souvent on a réellement une diminution d'agglutinabilité.

Ces variations quoiqu'artificielles, doivent tout de même être considérées, parce qu'évidemment elles peuvent constituer une cause d'erreur dans l'étude des variations proprement biologiques, spontanées, morbides ou expérimentales. En effet, surtout en ce qui concerne les variations des agglutinogènes, on est forcé de se rapporter aux sérums-text précédemment prélevés, qui au cours des expériences peuvent avoir subi des variations artificielles. Ces variations ne peuvent être contrôlées d'une façon absolue, car il faut les rapporter à des individus-text constants dont les globules rouges pourraient, dans l'intervalle, avoir changé leur sensibilité.

Si nous voulions encore nous rapporter a des globules conservés de la façon la plus sûre, c'est-à-dire dans le coagulum, nous savons par les déterminations de Siracusa et Profili que dans ces conditions l'agglutinogène s'atténue peu à peu jusqu'à disparaître en un mois environ.

Ces dernières raisons portent aussi un élément de relativité dans les conclusions concernant des variations proprement biologiques, qui sont le but le plus important de la recherche.

4. – Variations quantitatives physiologiques.

Une première variation quantitative physiologique très caractéristique est celle qui a lieu pendant le développement onto-génétique, c'est-à-dire pendant le processus que Hirszfeld a nommé *sérogénèse*. On avait affirmé à l'origine que le sérum des nouveau-nés manquait d'isoagglutinines. Mais

cette opinion a été promptement combattue par de nombreux Auteurs qui ont montré que le nouveau-né possède des agglutinines (lorsque son groupe le comporte) dans un remarquable pourcentage de cas. Bien plus, Jones en a trouvé dans des foetus de 7 mois, et Kemp en a constaté même au cinquième mois.

Ces agglutinines sont généralement assez faibles, quelquefois à un tel point qu'elles ne peuvent être mises en évidence que par des techniques spéciales (Jones); le titre ne surpasse pas le chiffre de 3 (Morville).

On a dit, tout d'abord, qu'après la naissance elles augmentaient; mais, au contraire, des recherches ultérieures ont prouvé qu'elles s'atténuent peu à peu jusqu'à disparaître en quelques semaines (Smith, Badino, Morville, Mitchell, Dychno-Dertschinsky).

Ce résultat s'accorde avec la doctrine soutenue par Hirszfeld-Zborowski et successivement par Lazarewicz-Zborowski, Hara Wakao, Karshner, Liedberg, Morville etc., suivant laquelle les agglutinines du foetus et du nouveau-né sont exclusivement d'origine maternelle et transmises à travers le placenta. D'autant plus qu'elles paraissent parfois qualitativement paradoxales; par ex: mère B, fils A B, dont le sérum contient l'agglutinine-paradoxe anti-A (Liedberg, Morville). Successivement à la disparition des agglutinines maternelles, ou bien lorsqu'elles manquent chez le nouveau-né, on constate l'apparition des agglutinines « propres » de l'enfant, à une époque qui peut être indiquée au plus tôt vers la fin du premier mois, et habituellement vers le troisième-quatrième mois (Kirihara, Morville, Dychno-Dertschinsky). Au sixième mois on trouve encore des enfants dépourvus de leurs propres agglutinines (Morville).

La fin de la première année représente l'âge auquel la formation des isoagglutinines est considérée certaine. Le développement quantitatif n'est cependant pas terminé, mais continue sans aucun doute ultérieurement. Il y a des divergences dans l'indication du moment de la plus grande activité, ou, pour mieux dire, de la stabilité physiologique.

V. Dungern et Hirszfeld croyaient qu'on parvenait à la période d'état à l'âge de deux ans. Thomsen et Kettel pensent qu'on arrive jusqu'à 5-10 ans; suivant Breitner, Schiff-Mendlowicz, Gerszon, au contraire, jusqu'à 30 ans.

Ces résultats sont fondés plus que sur les titrations individuelles, sur des considérations statistiques dans les différentes catégories de l'âge.

D'une manière analogue on a pu affirmer (Schiff et Mendlowicz, Thomsen, Kettel) qu'après la période d'arrêt et exactement à partir de 40-50 ans, a lieu une « involution sérologique » par laquelle le titre des isoagglutinines diminue graduellement jusqu'à atteindre les valeurs habituelles chez les nourrissons.

Des variations ontogénetiques ont été remarquées aussi pour les

isolysines qui, à la naissance, sont bien plus rares et moins abondantes que dans l'âge adulte (Jones).

En ce qui concerne les variations ontogénétigues des iso-agglutinogènes on sait que leur apparition est très précoce (deux mois environ: Kemp, Knudston, Torben); bien plus, elle est peut-être congénerée avec l'oeuf fécondé, du moment qu'ils existent dans les éléments germinaux. Toutefois au point de vue quantitatif ils subissent une sorte de maturation.

Les études systématiques de Kemp et Morville ont montré que pendant la vie foetale la sensibilité des agglutinogènes est très basse, environ de 40 à 50 fois moindre que chez l'adulte· Elle augmente ensuite plus rapidement dans les premiers mois, jusqu'à arriver, selon Morville, au *maximum*, à l'âge de 4 mois. Toutefois, suivant les déterminations plus exactes de Björum-Kemp et Thomsen-Kettel, même après cette période le taux d'agglutinogène continue à augmenter lentement, de manière qu'entre 7 et 15 ans on trouve des valeurs qui correspondent à 3/4 de celles des adultes; seulement vers 15-20 ans on arriverait au niveau définitif.

***

Les phases physiologiques de la vie féminine ont été étudiées dans leur influence sur les variations groupe-spécifiques. La menstruation a été soigneusement étudiée par W. Fischer et on a remarqué qu'elle coïncide assez souvent avec le commencement d'un abaissement évident du titre des agglutinines, de la durée de quelques jours, après quoi les valeurs reprennent leur normalité. La courbe suivie pendant quelque temps montre des abaissements périodiques mensuels.

Pendant le cours de la grossesse on a quelquefois constaté, suivant les études de Schneider, Grünwald, de médiocres augmentations en comparaison avec la normalité. Il faut cependant remarquer qu'il s'agit de comparaisons purement statistiques faites sur du matériel obstétrical et non fondées sur la comparaison individuelle eutre les valeurs *ante graviditatem* et d'autres, recueillies pendant le cours de la grossesse.

D'autre part, en certains cas, Hirszfeld et Zborowsky, Schneider, Pistuddi, ont observé un pouvoir agglutinant fort bas pendant la grossesse, jusqu'à se réduire presque à zéro au moment de l'accouchement (il y a quelques anciennes observations de Schenck et de Bolaffio en ce sens).

On peut au contraire facilement constater la fréquente et considérable augmentation du pouvoir agglutinant pendant les couches, soit après un accouchement régulier, soit après avortement; cette augmentation est particulièrement évidente lorsque l'agglutination était faible pendant la grossesse.

Cela laisse penser que l'augmentation est due à la cessation de la présence foetale, et, plus exactement, que le placenta laisse passer dans la mère des agglutinogènes foetaux. Dans le cas ou ils seraient (comme cela a lieu souvent) hétérogènes a la mère, ils absorbent, pendant la grossesse, l'agglutinine. Puisque après l'accouchement, cette soustraction cesse, le titre des agglutinines augmente promptement. Les observations sur le sang rétroplacentaire ont confirmé cette supposition (Hirszfeld et Zborowski, Liedberg. Krehninger-Guggenberger, Hamburger) en mettant en évidence que ce sang a un titre bien plus bas que celui de la circulation maternelle générale, pour les agglutinines capables de réagir avec les globules rouges du foetus.

Cependant l'augmentation, quelquefois très forte (au décuple) du titre des iso-agglutinines pendant la période puerpérale, n'a pas lieu seulement dans les cas de grossesse hétérospécifique avec incompatibilité des globules foetaux, mais quelquefois aussi dans la grossesse homospécifique, même dans celle où la mère et le fils appartiennent au groupe 0 dans laquelle l'intervention des iso-agglutinogènes est complètement exclue.

Etant démontré que les agglutinines maternelles passent dans le foetus et qu'il est capable de les détruire, on pourrait trouver là une autre cause de la faiblesse des agglutinines chez la femme enceinte et de leur augmentation dans celle qui vient d'accoucher.

D'après l'étude de Puccioni il semble que ces explications, quoique non négligeables, ne conviennent pas à la généralité des cas, mais qu'il doit y entrer des causes génériques inhérentes à la condition physico-chimique du sang dépendant de l'absorption de matériaux de disgrégation qui proviennent de l'utérus.

Puccioni a suivi en outre l'allure de l'augmentation puerpérale et il a remarqué qu'elle est *maxima* vers la 5.me journée; après quoi on constate un retour graduel aux valeurs normales.

En ce qui concerne le comportement des agglutinogènes pendant la grossesse, Bolaffio, bien avant la connaissance des groupes sanguins, avait remarqué une diminution d'agglutinabilité pendant la grossesse et une augmentation dans la période puerpérale. Des observations semblables, mais relatives à la propriété de groupe, on été faites par Shimada en 1927. Récemment Puccioni a systématiquement constaté que la diminution de la sensibilité globulaire pendant la grossesse, et l'augmentation pendant la prériode puerpérale sont à peu près constantes, avec une allure chronologique qui est presque parallèle à celle des agglutinines.

D'autres variations physiologiques des iso-agglutinines ont été affirmées, mais pas exactement documentées ni dans leur intensité ni dans leurs causes. Par exemple, Harper-Byron les ont attribuées a des changements dans l'alimentation (ce qui n'a pas été confirmé). D'autres

(Jervell, Hektoen, Fischer) ont parlé de variations spontanées, parfois très étendues. Fischer publie des courbes où l'on retrouve, même dans le mâle, des oscillations à caractère mensuel ou même irrégulières.

Chez d'autres individus le taux des agglutinines est d'une remarquable constance.

Miyazaki, par des recherches annuelles, a remarqué que le titre moyen des agglutinines, soumises d'ailleurs à de nombreuses variations même à court intervalle, subit des oscillations saisonnières caractéristiques. Le titre atteint son *maximum* en plein été et en plein hiver, le *minimum* dans les saisons intermédiaires. L'A. pense que ces oscillations peuvent éventuellement être liées aux variations périodiques de l'activité des organes endocriniens.

La fatigue musculaire n'a pas donné lieu à des variations dans le pouvoir iso-agglutinant; au contraire, selon les résultats de Denissenko et Scheinermann, on constate une presque constante augmentation de sensibilité globulaire, contenue cependant dans des limites très modérées (et, il faut le dire, comprise dans les limites d'erreur de la détermination). Suivant ces Auteurs la variation est plus marquée à l'égard de l'agglutinogène A qu'à celui du B, même lorsqu'on considère les individus A B.

5. – Variations pathologiques et expérimentales.

On sait que dans le passé (et sporadiquement aussi actuellement) on a affirmé la possibilité de changements qualitatifs des propriétés agglutinantes à la suite de processus morbides ou d'interventions expérimentales, au point qu'on a pensé que le groupe sanguin puisse changer.

Cela n'est certainement pas vrai; mais l'affirmation dépend évidemment de la possibilité de variations quantitatives capables d'altérer l'appréciation qualitative.

Sans doute il faut se rappeler l'intervention des causes d'erreur dues à la pseudo-agglutination (Lattes) (celle qui donne lieu au phénomène de la variation de la vitesse de sédimentation), notoirement influencée par de multiples conditions morbides et expérimentales.

Cependant d'après les plus anciennes observations (antérieures à la doctrine des groupes et par conséquent non rigoureuses) il résulte que certaines maladies et certaines interventions thérapeutiques font varier l'intensité des propriétés iso-agglutinantes. Parmi ces dernières il faut rappeler celles de Lo Monaco-Panichi et Grixoni, suivant lesquelles le pouvoir iso-agglutinant augmente dans le paludisme, et diminue par le traitement quininique.

D'autres observations semblables ont été faites par Ascoli, Moldaws-

kaya-Pauli, Rubsachkin, Marini, etc. Schneider, Grünwald ont remarqué une augmentation dans les titres d'iso-agglutination pendant ou à la suite des infections obstétrico-gynécologiques, ou d'interventions sur les organes génitaux de la femme. Van der Spek et Kortbeek ont constaté, en opposition avec la constance du titre chez les individus en bonne santé, de fréquentes et remarquables oscillations chez des malades (tuberculeux) peut-être en rapport avec les traitements médicaux. Dans les individus 0, les deux agglutinines variaient parallèlement.

Minkevitsch-Raschkin dans plusieurs infections, et précisément dans celles d'une certaine gravité, ont observé des augmentations du pouvoir agglutinant, qui atteignaient le *maximum* dans les cas mortels, et qui se rapprochaient de la normalité en cas de guérison. Ils les interprètent comme un signe des réactions organiques.

Bond aussi a remarqué que des iso-agglutinines, d'abord non appréciables dans les sérums, ont acquis une remarquable intensité après une infection.

En dehors du champ clinique des infections, il résulte, d'une façon tout à fait analogue, que les stimulations expérimentales aspécifiques font croître le titre des iso-agglutinines.

Mino a vu des augmentations modérées, dues à des injections intramusculaires de sang recueilli sans précaution et, par conséquent, « hétérogénisé »; de même par des injections de *caséal* et de nucléinate sodique. Biancalana et Teneff ont remarqué une augmentation après des injections de lait.

Particulièrement intéressantes sont les expériences de Halber, Hirszfeld et Mayzner, desquelles il résulte que les injections chez de jeunes enfants de vaccins typhique et anti-varioleux et d'anatoxine diphtérique excitent la formation des iso-agglutinines chez les nourrissons qui en manquent encore, et la renforce jusqu'à 800% chez les enfants plus âgés.

Ces expériences pouvent être comparées a celles de Witebsky, suivant lesquelles les anticorps groupe-spécifiques spontanés chez le lapin peuvent subir des augmentations dues à des stimulations aspécifiques. Et même la transfusion compatible, en agissant comme stimulation protéinique aspécifique, peut provoquer des augmentations du titre des iso-agglutinines (Moritsch-Hoche, Van der Spek-Kortbeek).

D'après certaines observations il semble que même des interventions non immunitaires peuvent produire une augmentation du titre des iso-agglutinines, et précisément l'introduction de substances chimiques bien déterminées et non protéiques; par ex.: le calomel (Mino), les narcotiques (Schneider, Levine, Segall) et d'autres encore (Weil, Moritsch-Hoche).

D'une particulière valeur doctrinale et pratique sont les augmentations du taux des anticorps groupe-spécifiques qui sont déterminées

par des *stimulations spécifiques*; d'est-à-dire par l'introduction des antigènes groupe-spécifiques. Ces stimulations, bien entendu, ne peuvent avoir lieu que lorsque l'antigène considéré est étranger à l'organisme de l'individu, c'est-à-dire si par ex, il s'agit de l'antigène A pour l'individu B, et réciproquement, ou bien de l'un ou de l'autre antigène pour l'individu O. Il est intéressant à ce propos de rappeler l'hypotèse de Süssmann, selon laquelle la formation et l'augmentation graduelle des iso-agglutinines chez l'enfant aurait une origine spécifique immunitaire. Dans les premiers temps de la vie on trouve les agglutinogènes héréditaires, mais non pas les agglutinines. Elles se formeraient par immunité, grâce à l'introduction parentérale (aspiration) de particules de salive étrangère, suspendues dans l'air, qui agiraient comme stimulus spécifique, dans le cas qu'elles contiennent des antigènes différents de ceux du sujet.

Si l'on pense que dans le milieu (chez nous) l'antigène A est beaucoup plus répandu, on s'explique la formation plus précoce et plus intense, chez l'enfant, de l'anti-A, comparé à l'anti-B. En réalité, M. Thomsen a mis en discussion si les substances A et B peuvent agire en qualité d'antigènes. Ce qui, d'ailleurs, ne peut plus être douteux. À part le fait que, par les globules A ou B on parvient à provoquer une immunisation groupe-spécifique chez les animaux, cette immunisation groupe-spécifique avec la conséquente augmentation des iso-anticorps peut être considérée comme démontrée. Thomsen même, qui, la suite d'injections musculaires de globules A chez des individus B, ou bien O, n'avait pas vu augmenter l'iso-agglutinine, a trouvé une augmentation de l'iso-lysine.

Biancalana et Teneff, par de petites transfusions veineuses expérimentales de sang A et B (même successives l'une à l'autre) dans des individus O, et par des titrations soignées de l'anti-A et de l'anti-B, ont clairement démontré la réaction immunitaire groupe-spécifique qui s'ensuit; en effet on obtient exclusivement (et d'une manière considérable) l'intensification de l'agglutinine qui correspond à l'agglutinogène injecté.

Cette expérience s'est quelquefois répétée, et d'une manière spontanée, dans la pratique clinique de la transfusion, en déterminant des conséquences très graves. De tels exemples sont assez anciens, parce qu'actuellement, on fait précéder chaque transfusion par un exact groupement; ils sont en outre exceptionels, même dans le passé, parce qu'il est rare que la transfusion incompatible se vérifie justement chez un receveur défectueux en agglutinines.

Habituellement l'introduction du sang incompatible, détermine immédiatement des manifestations de shock. On a cependant quelques cas bien clairs d'évidente et dangereuse immunisation groupe-spécifique chez l'homme, grâce à laquelle les iso-agglutinines ont subi une intensification évidente.

Par exemple, dans le cas de Michon le plasma d'un receveur A n'agglutinait pas les globules du donneur B. Malgré cette incompatibilité, on a fait une transfusion de 200 cmc. sans conséquences nuisibles.

Une seconde transfusion pratiquée après quelques jours, produisit immédiatement des symptômes évidents de shock, nettement dûs au développement immunitaire des anticorps.

En opposition aux nombreuses circonstances qui donnent lieu à une augmentation d'iso-agglutinines et qui peuvent être expliquées par des phénomènes de stimulation spécifique ou aspécifique, il y en a quelques-unes au cours desquelles on constate une diminution d'activité.

Dans certains cas on dirait qu'il s'agit d'une action indirecte. Par ex., si l'ancienne observation que le traitement quininique diminue le pouvoir agglutinant du plasma des sujets atteints de paludisme était confirmée, ceci pourrait être attribué à l'influence du médicament sur la maladie qui, à son tour, avait provoqué l'augmentation.

Un effet diminuant beaucoup plus direct et précis a été mis en évidence par Gelli et Tarozzi; ils ont observé que pendant la maladie causée par l'injection de sérum anti-diphtérique on a une diminution critique du taux des iso-agglutinines de la durée de deux ou trois jours, en coïncidence avec les phénomènes anaphylactiques.

Cette diminution peut faire arriver le titre jusqu'à l'1/100 du précédent et du suivant.

A côté de ces intéressantes observations qui montrent les rapports entre l'iso-agglutination et les conditions immunitaires générales, il y en a d'autres d'après lesquelles on aperçoit clairement la relation avec les conditions de réactivité de l'organisme en général et des organes hématopoïétiques en particulier. Schusterof a remarqué que le jeûne prolongé chez les prisonniers affamés sibériens (jusqu'à 27 jours de jeûne complet) provoque une diminution de l'activité iso-agglutinante; Gerszon a fait la même remarque sur des cardiaques graves, Einaudi chez les cancéreux cachectiques; Karsner dans l'anémie pernicieuse. Schiff surtout a constaté dans la leucémie (statistiquement en 30 cas) un remarquable abaissement du titre des iso-agglutinines et bien souvent des titres extrêmement bas au sens absolu, tels qu'on n'en observe jamais chez les individus non leucémiques de comparaison.

Schiff a mis ce résultat en rapport avec celui de Moreschi sur l'incapacité des leucémiques à produire des anticorps par suite de la vaccination antityphique.

Ces observations font penser qu'il peut se vérifier une « atrophie sérologique » qui trouve son expression aussi dans la diminution du pouvoir isoagglutinant. Il faut ajouter que la régularité de de phénomène n'est pas bien sûre. Schiff par ex, n'a trouvé aucune variation dans les sérums

des cancéreux qu'il a examinés; et dans l'anémie secondaire il a trouvé des taux plutôt élevés.

Il faut rappeler que des variations morbides (jusqu'à la disparition) ent été observées aussi pour les isolysines. Mais les déductions sont ici bien plus incertaines, car on ne sait pas jusqu'à présent clairement si ces variations sont causées par les changements des anticorps groupe-spécifiques, ou bien par de multiples activités anti-hémolytiques aspécifiques qui peuvent se trouver dans les sérums.

En ce qui concerne les variations morbides ou expérimentales des agglutinogènes nos connaissances sont pour le moment fort limitées. Schumacher-Atzerodt ont observé (sans pratiquer de véritables titrations) l'influence de la galvanisation et de la diathermie sur l'agglutinabilité des globules rouges. En vérité, sur quatre cas l'agglutinabilité avait augmenté et s'était considérablement accélerée dans deux cas; dans les deux autres elle s'était, au contraire, affaiblie. Les Auteurs ont attribué ce résultat a des altérations de la charge électrique globulaire.

Hübener chez une malade (*angina pectoris*) appartenant au groupe A, a trouvé des oscillations de l'agglutinogène A, telles qu'à plusieurs reprises il n'était plus déterminable (le sang paraissait transitoirement de la formule O β).

Van der Spek-Kortbeek ont fait une observation semblable. Chez un individu A atteint d'aleucie (titre 1: 64), à la suite de deux transfusions de sang O, tandis que l'agglutinine β diminuait d'abord et ensuite augmentait, l'agglutinogène A devenait si faible qu'on ne pouvait plus le mettre en évidence.

Chez un autre sujet atteint d'anémie cancéreuse, une première transfusion de sang A éleva huit fois la sensibilité globulaire; une seconde transfusion la diminua de nouveau.

Chez d'autres malades A auxquels on avait pratiqué la transfusion avec des donneurs du même groupe, on remarqua tout d'abord de petites élévations et ensuite des diminutions très fortes.

Chez des tuberculeux qui suivaient des traitements différents on a eu des oscillations très remarquables du titre d'agglutinabilité (jusqu'à 64 contre 4).

Une étude sur l'agglutinabilité en rapport à des conditions morbides déterminées a été faite expressément par Rubaschkin, Moldawskaya et Pauli pour le paludisme.

Statistiquement (sur des chiffres cependant exigus; 25 sains et 10 atteints de paludisme) il constatèrent tout d'abord une sensibilité globulaire environ double que chez les sains, pour les malades loin de l'accès.

Ensuite ils étudièrent individuellement les variations de la sensibilité chez les malades spontanés, et chez ceux qui avaient été soumis à la malario-thérapie.

Il résulta clairement que dans la période aigüe on a une remarquable augmentation de la sensibilité globulaire (qui passa de 4-8 à 64-128). Elle oscille parallèlement à la fièvre et se réduit à l'état normal par le traitement quininique.

Chez les sujets A B les oscillations sont notablement supérieures pour l'agglutinogène B que pour l'agglutinogène A.

D'après ce que l'on a pu constater il ne semble pas que les processus morbides donnent lieu à des modifications de la sensibilité spécifique des globules rouges à l'isolyse.

6. – Interprétation des variations quantitatives.

L'interprétation des variations quantitatives des iso-anticorps a été formulée par Hirszfeld de façon qui a semblé satisfaisante à tous les auteurs.

Avant sa doctrine sur la *sérogenèse*, on avait cru (conformément à d'anciennes idées sur les anticorps naturels) que la formation des iso-anticorps était la réponse de l'organisme à certaines stimulations bien déterminées, naturellement sur des rails rigoureusement délimités par l'hérédité. « Que l'agglutinine se forme vraiment, et surtout qu'il s'en forme peu ou beaucoup, cela dépend des pouvoirs généraux de l'organisme qu'on synthétise dans l'idée de réactivité organique » (Mino). Si l'on pouvait considérer comme certaine l'hypothèse de Süssmann, suivant laquelle la formation des agglutinines dépend de l'introduction par aspiration d'iso-antigènes contenus dans la poussière athmosphérique, on pourrait croire que l'abondance et la présence d'agglutinine dépendent d'une réaction immunitaire de l'organisme jeune ou adulte.

Mais l'hypothèse est bien loin d'être sûre: tout au contraire il y a plusieurs preuves contraires; par ex.: l'observation de Nigg que chez les Indiens rouges purs, chez lesquels manque tout à fait le groupe B (et A B) les individus O et A possèdent cependant l'agglutinine anti-B. Par conséquent il doit y avoir une cause de formation des iso-agglutinines différente d'une réaction proprement dite à des stimulations définies.

Cette cause est en elle même mystérieuse, aussi bien que les facteurs premiers de l'ontogenèse; mais Hirszfeld l'a reconduite d'une façon suggestive à des connaissances qui nous sont familières. Il affirme que les anticorps sont des « organes biochimiques », qui, de même que les morphologiques, sont formés par une différenciation autonome selon les voies marquées par l'hérédité et subissent une maturation pareillement autonome.

L'explication de la formation et de l'accroissement du pouvoir iso-agglutinant du premier âge est limitée à ce que nous venons de dire.

Cela n'empêche pas qu'à cet âge et même plus tard, lorsque la maturité sérologique est normalement atteinte, des stimulations immunitaires proprement dites, de nature spécifique ou aspécifique et d'origine éventuellement accidentelle, morbide ou expérimentale, ne puissent s'exercer. Suivant des lois immuno-biologiques bien connues, ces stimulations immunitaires sont propres à déterminer l'augmentation des iso-anticorps dans une mesure d'autant plus grande que la réactivité de l'organisme est accentuée.

Or cela a lieu seulement dans les directives préformées, alors même qu'il s'agit de stimulations aspécifiques. On en tire, dit Hirszfeld, l'impression que les stimulations aspécifiques mobilisent les dispositions réactives préexistantes et ceci d'une manière d'autant plus intense que la voie de réaction correspondante est plus aplanie, c'est-à-dire que l'anticorps normal est plus fort.

L'explication généralement admise jusqu'à présent est par conséquent double: formation et augmentation primaire *physiologique* des iso-anticorps, due au développement autonome ontogénétique; augmentation secondaire *pathologique* (au sens le plus large du mot) qui suit à l'action des stimulations spécifiques et aspécifiques.

Ce dernier processus explique les augmentations du pouvoir iso-agglutinant par suite des maladies ou des interventions expérimentales. Mais il n'est pas aussi simple de comprendre comment les diminutions peuvent intervenir.

Naturellement en disant qu'après les augmentations immunitaires il doit intervenir une diminution, parce que, cessant la cause, l'effet doit cesser aussi, nous ne donnons aucune explication du phénomène, ni apportons aucun éclaircissement sur ses modalités.

Il y a cependant quelques données plutôt sommaires qui nous permettent d'entrevoir quelque chose à ce propos.

L'organisme est capable physiologiquement de se débarasser des anticorps circulants.

On explique aisément la disparition des agglutinines capables de se lier avec les agglutinogènes globulaires, par ex.: des agglutinines d'un donneur universel 0 α β, introduites par transfusion dans un réceveur A, B, ou bien AB. On a alors le phénomène d'absorption spécifique qui soustrait aussitôt l'anticorps; lequel, cependant, peut être transitoirement révélé dans le plasma.

Mais les agglutinines maternelles qui circulent dans le nouveau-né disparaissent, comme on l'a déjà dit, du sang de ce dernier en quelques semaines, quoiqu'elles n'aient aucune affinité avec ses cellules mobiles ou fixes. On peut penser qu'elles sont *éliminées ou détruites* par l'organisme; et nous avons des raisons pour croire à la possibilité des deux éventualités.

Il est certain que l'organisme, dans certaines conditions déterminées, peut éliminer une quantité d'iso-agglutinines considérable. Étant donné qu'on trouve ces anticorps dans le lait, on comprend qu'ils sont soustraits à la nourrice d'une façon continuelle et dans une mesure très notable.

De plus, on trouve des agglutinines dans la salive, qui les entraîne dans le tube digestif; puisque les iso-agglutinines ont une constitution protéique, et font partie précisément des euglobulines (Bleyer, Lattes) elles ne peuvent pas être absorbées, et doivent être détruites par les sucs digestifs.

Quoiqu'il en soit, dans les excréments on n'en trouve pas.

La supposition que par la sécrétion d'autres glandes du trajet gastro-entérique ait lieu une élimination et une successive destruction physiologique des iso-agglutinines, ne paraît nullement invraisemblable (quoique nous manquions jusqu'à présent de données à ce sujet).

Si, malgré ces soustractions, une certaine constance du titre des anticorps persiste, nous devons en conclure que cette uniformité relative dépend de l'équilibre entre l'élimination ou la destruction d'un côté, et la formation continuative de l'autre. Chez le nouveau-né cette formation n'a pas encore lieu, et, par conséquent, les agglutinines diminuent et disparaissent; si dans l'adulte s'établissent des altérations pathologiques des organes destinés à la formation (organes hémopoïétiques, réticulo-endothélium?), cette formation peut résulter insuffisante, et il peut y avoir une diminution ou une disparition (Voir ci-dessus les observations concernant la leucémie, l'anémie pernicieuse, la cachexie).

Si à cause des stimulations immunitaires prévaut la production, on constatera une augmentation.

Cette conception d'un équilibre dynamique trouve une base encore meilleure dans l'étude des iso-agglutinogènes.

L'interprétation des variations du titre des agglutinogènes des globules rouges du sang avait heurté jusqu'à présent contre d'insurmontables difficultés. L'agglutinogène est une propriété fixe primitive héréditaire, commune à toutes ou à presque toutes les cellules de l'organisme.

Tant qu'on la considère comme une propriété *statique* il n'est pas facile de proposer une explication de ses variations. Tout au plus les accroissements qui ont lieu pendant le développement foetal et pendant le tout premier âge, peuvent entrer dans le problème général de la différenciation biochimique ontogénétique. Mais les variations qui ont lieu ensuite, après que le terme du développement a été atteint, n'ont trové aucune autre tentative d'explication, si ce n'est dans des altérations physico-chimiques du sang, bien vagues et du reste nullement précisées.

Récemment plusieurs chercheurs et surtout Schiff, ont reconnu que les substances groupe-spécifiques A et B sont physiologiquement sujettes a un échange actif. Elles sont éliminées du corps sous forme hydrosoluble, par les urines; et en outre pendant l'allaitement, par le lait, et enfin par le sperme aussi. Elles se versent en quantité considérable dans la salive, dans le suc gastrique et entérique et dans la bile. Leur nature chimique n'est pas encore déterminée; il est cependant certain que ces substances groupe-spécifiques sont thermostables, non dialysables (ou du moins avec une grande difficulté), résistantes à l'action des ferments digestifs et qu'on peut les obtenir dépourvues de protéine.

Il est incertain si les fortes quantités de ces substances versées dans le tube gastro-entérique sont absorbées, ou bien décomposées dans la partie inférieure de l'intestin; dans les excréments elles n'ont pas été trouvées (sauf en cas de diarrhée).

Bien plus que pour les iso-anticorps, il est évident que l'organisme élimine physiologiquement, par ses excrétions des antigènes groupe-spécifiques; et par conséquent, il doit en fabriquer.

On peut aisément supposer que cet échange de substances groupe-spécifiques est en relation avec l'hémopoïèse et l'hémocathérèse. La présence de ces substances dans le plasma et en général dans les sucs de l'organisme (quoiqu'il s'agisse certainement de propriétés cellulaires primitives) pourrait être mise en rapport avec la continuelle destruction physiologique des globules rouges; et on peut aussi penser que la substance même, lorsqu'elle sort des éléments cellulaires est destinée à être éliminée. Vraisemblablement l'élimination est précédée par des transformations dégradatives: car (autrement que dans l'urine) dans les globules rouges la substance groupe-spécifique est contenue sous forme protéique et lipide (Landsteiner, Lattes, Schiff): mais ces formes ont la même action spécifique que celle, certainement plus simple, qui est contenue dans les excrétions.

Jusqu'à présent nous ne savons rien sur les différentes phases de cet échange particulier, sur les éléments qui y président, sur ses finalités biologiques. Selon les chiffres de Schiff (auxquelles il attribue une valeur relative, étant donnée l'imperfection de la technique) il en résulterait que cet échange est proportionellement beaucoup plus actif dans l'enfance, et que l'élimination groupe-spécifique diminue avec l'âge.

Il semble donc évident que la quantité d'agglutinogène qui existe dans le sang en un certain moment est elle-même le résultat d'un équilibre entre formation et élimination.

Les variations qui peuvent avoir lieu doivent être considérées (aussi bien que celles des iso-agglutinines) comme un indice d'altérations dans cet équilibre.

A tout prendre, les variations soit dans le pouvoir iso-agglutinant du sérum, que dans la sensibilité des globules rouges à l'iso-agglutination, présentent un grand intérêt non seulement comme résultat isolé, mais surtout comme indice d'un véritable échange physiologique des substances groupe-spécifiques, et de ses altérations pathologiques.

Evidemment nos connaissances à ce propos sont encore très modestes; mais en encadrant les résultats connus jusqu'à présent dans un problème d'échange organique, nous mettons en évidence son extrême intérêt.

Comme l'investigation qualitative sur les groupes sanguins a porté à des résultats d'une grande valeur dans les champs « statiques » de l'hérédité et de l'anthropologie, l'amplification des recherches quantitatives qui ont pour but d'éclaircir d'obscurs « dynamismes » physiologiques et pathologiques est pleine de promesses.

Nous devons toutefois affirmer clairement que les techniques dont nous disposons sont encore relativement très grossières, ce qui rend plusieurs résultats plutôt incertains.

Sans doute, des progrès considérables dans l'observation des faits et dans leur difficile interprétation, seront réalisés lorsqu'on pourra arriver à des améliorations substantielles dans les techniques quantitatives.

— —

PALMIERI V. M. – **Sur la panagglutination putréfactive et sur les variations quantitatives des caractéristiques groupe-spécifiques des cadavres.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

L'étude des propriétés groupe-spécifiques du cadavre offre un in-intérêt aussi bien théorique que pratique.

Au point de vue théorique il y a une évidente importance – pour mieux connaître l'essence des caractéristiques groupe-spécifiques – à relever de quelle manière se comportent les agglutinogènes et les agglutinines au cours d'un processus biochimique aussi important qu'est la décomposition cadavérique; au point de vue pratique il peut évidemment se présenter, dans les procès judiciaires, la nécessité de procéder à la détermination de l'appartenance de groupe en un sujet devenu cadavre depuis un temps plus ou moins long, en une série de contingences dont nous ne chercherons pas à fournir des exemples.

Dans une précédente série de recherches que j'ai communiquées au IV Congrès Italien de Médecine Légale (Bologne, 1930) j'ai exposé les

résultats de l'étude *qualitative* des caractéristiques groupe-spécifiques en un bon nombre (qui a atteint les 77) de cadavres d'adultes, conservés à l'air libre dans des limites de temps variables jusqu'à 20 jours de la mort, à diverses températures du milieu ambiant (8°-23°).

De ces recherches découlent les conclusions suivantes:

Le développement des phénomènes de putréfaction dans le cadavre n'est pas – dans certaines limites – un obstacle à la détermination de l'appartenance de groupe.

Ces limites sont variables, et dépendent des conditions de milieu, particulièrement de la température. A des températures ambiantes comprises dans les 20° il est possible d'obtenir des résultats acceptables, même deux semaines après la mort; et au-delà à des températures inférieures à 16°; à des températures supérieures à 20°, non au-delà de 4 ou 5 jours, en général.

Mes recherches ayant eu lieu sur des cadavres conservés à l'air libre, il est vraisemblable que les termes indiqués pourraient être prolongés pour les cadavres inhumés, lesquels – comme on le sait – se conservent plus longtemps de ceux laissés à l'air libre.

La progression de la putréfaction trouble gravement la isoagglutination; d'une part les éritrocites se gâtent jusqu'à se detruire totalement, et de l'autre dans le sérum se manifestent de nouvelles propriétés agglutinantes, ou bien disparaissent celles déjà existantes, de telle sorte que l'on ne peut plus attribuer aucune valeur à leur recherche.

Seules les recherches effectuées avec un résultat univoque sur le sérum et sur les corpuscules méritent confiance, en ce cas.

Les recherches de propriétés groupe-spécifiques dans les *urines* des cadavres ont toujours donné un résultat négatif.

La recherche des agglutinines dans le *liquide péricardiaque* s'est montrée plus favorable. A égalité de dates de la mort les propriétés groupe-spécifiques s'altèrent toutefois plus rapidement dans le liquide péricardiaque que dans le sérum du sang du même cadavre, bien que les conditions de conservation soient en général meilleures dans le premier que dans le second. Cette moindre résistance est vraisemblablement due à une plus grande faiblesse, ou à une moins grande richesse d'isoagglutinines dans le liquide du péricarde, par rapport au sérum.

II. Nos recherches ultérieures se sont effectuées en premier lieu dans le sens de chercher la genèse de l'apparition, dans quelques sérums putréfiés, de propriétés agglutinantes n'existant pas auparavant.

Un premier groupe de recherches d'orientation nous a permis de certifier les faits suivants:

1° Les nouvelles propriétés agglutinantes apparues dans quelques

sérums putréfiés essayés vers de nouvelles hématies se manifestaient actives non seulement envers les éritrocites *A* et *B* (éventuellemente *AB*), mais également envers les éritrocites *O*, qui sont dépourvus de récepteurs isospécifiques. On peut donc considérer le phénomène comme une panagglutination.

2° La susdite panagglutination résiste à la dilution 1: 2, 1: 5, et quelquefois même 1: 10. En suspendant les éritrocites-témoins en émulsion de lécitine, d'après la méthode de *Lattes*, la panagglutination le plus souvent n'a pas lieu, mais dans quelques cas les résultats ont été très incertains. Dans les cas favorables le sérum putréfié, essayé sur les éritrocites lécitinisés, ou bien s'est montré complètement inactif, ou bien a révélé la présence de l'isoagglutinine préexistante (généralement *b*).

Ces premières recherches éclairent suffisamment la nature du phénomène observé, qui rentre donc dans le champ des agglutinations aspécifiques, ou pseudoagglutinations.

Il y avait encore à identifier le mécanisme par lequel la putréfaction agit pour provoquer cette agglutination aspécifique.

Attendu que la putréfaction est essentiellement une fermentation putride opérée principalement par des enzymes bacteriens, se présentait naturelle l'hypothèse que les faits observés offraient de l'analogie ou une parenté avec les phénomènes de panagglutination d'origine bactérique, qui, spécialement en ces dernières années ont été observés et décrits.

J'ai cherché alors à reproduire expérimentalement la panagglutination putréfactive en contaminant du sang frais (sérum et globules) avec des germes provenant du sang d'un cadavre putréfié.

Avec le sang prélevé de ce cadavre j'ai fait des ensemencements en agar-gélatine, diluant progressivement la matière dans des capsules de *Petri*, de manière à pouvoir obtenir l'isolement de nombreux germes, parmi lesquels ont été identifiés des cocci et micrococci, gros bacilles du type mésentérique, le bac. subtilis et quelque autre espèce non parfaitement reconnue.

Ayant obtenu des cultures de chaque germe en bouillon, on a procédé à une série d'expériences diverses, pour essayer de faire apparaître sur du sang frais contaminé les mêmes phénomènes de panagglutination observés sur quelques sangs putréfiés.

Les premières nombreuses recherches faites après une demi-heure de la contamination du sérum ou des globules avec de la culture filtrée ou une suspension de microbes de chaque germe, l'une et l'autre à différentes dilutions et dans des conditions diverses, nous ont persuadé que par cette voie nous ne serions venus à bout de rien, ne pouvant en aucune façon entraver le développement normal des réactions isospécifiques avec l'apparition de propriétés agglutinantes.

Après tant d'insuccès, nous avons supposé que le motif devait en être attribué à l'erreur de croire que les altérations du sérum pussent se produire rapidement dans nos expériences *in vitro* (après une demi-heure de thermostat à 25°), là où les cas de sérums panagglutinants observés par nous concernaient toujours des cadavres appartenant à des individus morts depuis au moins deux semaines. On pouvait en déduire que l'altération engendrant la panagglutination putréfactive exigeât pour se produire un contact plutôt prolongé de l'agent d'altération avec les éléments du sang.

J'ai alors commencé une nouvelle phase de recherches, contaminant une certaine quantité de sérum *a* et *b* et une certaine quantité d'éritrocites *A* et *B* avec les microbes isolés en suspension isotonique, ou bien avec les respectives cultures filtrées, dans des éprouvettes stérilisées, bouchées avec de la ouate et laissées séjourner dans un milieu à température fixe et dans un thermostat à 25°.

Tous les trois jours étaient prélevées des prises de matière et faites les expériences d'isoagglutination, d'après le schèma suivant:

Sérum contaminé (*a* ou *b*) envers éritrocites normaux (*A* ou *B*); sérum normal (*a* ou *b*) envers éritrocites (*A* ou *B*) contaminés; sérum contaminé (*a* ou *b*) envers éritrocites contaminés (*A* ou *B*). La contamination était produite dans un groupe de cas avec émulsion de bactéries (1 goutte de culture dans 1 cmc. de solution isotonique), et dans un autre groupe avec culture filtrée. Avant la lecture des résultats les matériaux étaient maintenus dans un thermostat pendant une demi-heure à 25°.

En multipliant ainsi les essais et en adjoignant certains contrôles, on avait environ trente examens à faire pour chaque prélèvement et pour chaque germe, ce qui a rendu la recherche lente mais sûre.

Tous les essais faits avec les cultures filtrées ont donné un résultat négatif, dans le sens que l'on n'a nullement gêné la marche normale des isoréactions malgré la contamination du sang; de même a été négatif le résultat des essais faits avec la suspension de bactéries, lorsqu'elle contaminait seulement les éritrocites. On obtint au contraire des résultats positifs avec le sérum contaminé par une émulsion de bactéries (à n'importe quels germes isolés elle appartint), lorsque la contamination datait d'un certain temps. Les mêmes résultats ont été obtenus lorsque non seulement le sérum mais encore les éritrocites en jeu dans la réaction avaient été préalablement contaminés.

Nous avons considéré comme résultat positif le fait que le sérum, d'abord du type *a* ou *b*, devenait panagglutinant, c'est-à-dire capable d'agglutiner les corpuscules *A*, *B* et *O*, ainsi que, éventuellement, ceux *AB*. Ce résultat était atteint après 9-27 jours de contact du sérum (ou bien du sérum et des hématies) avec une émulsion de bactéries de n'importe quel germe parmi ceux isolés.

Nous obtenions ainsi la confirmation de notre hypothèse, que la panagglutination putréfactive était un phénomène d'origine bactérique, et qu'un contact prolongé était nécessaire entre les germes et le sang avant que les sérums s'altérassent dans ce sens.

Le temps nécessaire pour rendre panagglutinant un sérum contaminé ne peut être exactement déterminé à priori, mais il varie suivant la concentration bactérique de l'émulsion avec laquelle elle se trouve en contact; à égalité de concentration par interférence de facteurs individuels inhérents au germe, et enfin par des éléments non encore exactement déterminés, mais vraisemblablement liés aux altérations qui se produisent dans les sérums par leur vieillissement.

Il est intéressant de relever également qu'une fois devenus panagglutinants, les sérums ne perdent pas cette qualité si on les filtre, et il est peut-être même préferable qu'ils le soient dans la pratique, pour éviter de supposer que le phénomène soit dû à une simple adhérence du corps bactérique aux hématies.

Les observations expérimentales ultérieures faites par nous permettent de caractériser la panagglutination putréfactive de la manière suivante:

1° Après un contact prolongé (de pulsieurs jours ou semaines) des germes que l'on rencontre dans le sang putréfié avec un sérum quelconque, dans le sérum ainsi contaminé se produisent des altérations qui le rendent panagglutinant, c'est-à-dire tel à pouvoir agglutiner non seulement les éritrocites *A* et *B* (éventuellement *AB*), mais aussi ceux *O*, qui sont dépourvus d'isorécepteurs.

2° Cette panagglutination se constate également à des températures plutôt élevées (20°-25°), qui excluent son identité avec l'agglutination à froid; elle résiste en outre à la dilution jusqu'à un certain degré (1: 5, quelquefois même 1: 10), et le plus souvent ne se produit pas lorsque les éritrocites sont rendues réfractaires à l'empilement par la lécitinisation. Il n'est pas possible d'extraire, même par l'absorption prolongée, les propriétés panagglutinantes du sérum contaminé.

3° Le principe altérant d'origine bactérique n'est pas filtrable, mais une fois qu'il a rendu panagglutinant le sérum avec lequel il a été en contact, la capacité panagglutinante passe également dans le même sérum filtré.

4° Les propriétés isospécifiques originaires du sérum contaminé peuvent être remises en évidence, en l'essayant envers les hématies licitinisées; on peut alors – lorsque l'essai réussit – constater que les propriétés isospécifiques sont tantôt présentes et tantôt disparues. S'il s'agit de sérum *ab*, les deux isoagglutinines peuvent présenter une résistance différente à l'influence altérante.

Cette panagglutination putréfactive. qui peut être reproduite expérimentalement – ainsi que nous l'avons fait – rentre donc pour ses caractères essentiels dans le cadre de la pseudoagglutination. Nous pouvons dire qu'il s'agit d'une pseudoagglutination d'origine bactérique, qui vient se former après un contact prolongé de divers germes avec le sérum.

III. En partant de la constation que dans les serums putréfiés manquent souvent les propriétés isoagglutinantes originaires, une troisième phase de notre travail a été dédiée à l'étude des variations quantitatives des propriétés groupe-spécifiques dans les cadavres, à différentes distances du décès.

Les recherches ont été faites sur 11 cadavres; pour le titrage des isoglutinines le sérum de sang extrait des gros vaisseaux sanguins du cadavre, à des intervalles réguliers de trois jours, a été dilué progressivement en solution physiologique, jusqu'au rapport 1: 516; cela comportait 9 dilutions, une dixième réaction s'effectuait avec le sérum entier; les éritrocites témoins étaient non seulement les habituels *A* et *B*, mais j'y ai ajouté également ceux du groupe *O*, pour pouvoir surprendre l'éventuelle apparition de phénomènes d'agglutination anormale; cela comportait un ensemble de 30 essais pour chaque fois et pour chaque cadavre.

La réaction a été effectuée en thermostat à 25°, afin d'éviter l'apparition de phénomènes d'agglutination à froid. J'ai considéré comme titre du sérum soumis à l'examen la plus grande diluition à laquelle il pouvait encore agglutiner clairement les éritrocites-témoins. Ceux-ci étaient à leur tour, avant chaque expérience, titrés avec du sérum frais et actif; ont été exclus ceux dont le titre était inférieur à 256.

D'après les expériences faites on constate qu'en réalité les isoagglutinines tendent à diminuer quantitativement dans le cadavre, à mesure que l'on s'éloigne du moment de la mort. La différente capacité de résistance, ainsi que la richesse originaire du taux, sont évidemment des éléments particuliers pour chaque sérum, toutefois on peut dire d'une manière générale que le titre des isoagglutinines est encore assez élevé (entre 64 et 256 dans nos expériences) 2-3 jours après la mort, mais tend à diminuer progressivement, jusqu'à s'annuler, habituellement entre 15 et 20 jours après le décès, dans les cadavres conservés à l'air libre, et à des températures ambiantes variant de 10° à 21°. Dans les sérums de groupe *ab* le titre et la capacité de résistance des deux agglutinines peuvent ne pas être identiques; dans nos observations l'agglutinine *a* s'est montrée constamment plus riche au commencement, et plus persistante à la décomposition du cadavre.

L'apparition de la panagglutination putréfactive, de laquelle nous avons parlé en son temps et lieu, peut ne pas coïncider avec la dispa-

rition des véritables isoagglutinines, comme l'on peut constater avec les éritrocites lécitinisés, lorsque l'expérience réussit. Toutefois dans ces cas l'apparition de la pseudoagglutination coïncide habituellement avec une chute plus accentuée du taux des isoagglutinines.

Dans ces mêmes cadavres a été déterminée la valeur quantitative des isoagglutinogènes, en nous servant de sérums-témoin frais *a* et *b*, de titre supérieur à 256, et dilués progressivement jusqu'à 1: 512; ils étaient essayés à 25° envers un volume égal de suspension globulaire cadavérique isotonique, à peu près à 5%.

Evidemment on ne peut attribuer aux chiffres obtenus une valeur absolue, attendu que non seulement nous ne connaissons pas les valeurs présentées par les individus lorsqu'ils étaient vivants, mais la nature même de la recherche est telle qu'aussi bien la sensibilité des hématies, que la richesse en agglutinines dès sérums ne peuvent être absolument evaluées, mais seulement par rapport aux autres sérums, ou à d'autres corpuscules rouges. Néanmoins, même en formulant cet avertissement il ressort de nos déterminations le fait que la richesse des récepteurs chez les éritrocites de cadavres tend rapidement à diminuer dans les jours successifs à la mort, jusqu'à s'annuler dans les 11-15 jours, ayant en tout cas une courbe décroissante avec des caractéristiques, pour ainsi dire, individuelles, outre le rapport aux conditions du milieu.

Dans ces conditions notre expérience nous avertit qu'après 15 jours de la mort, très rarement on peut déterminer avec profit la détermination du groupe sanguin dans un cadavre conservé à l'air libre.

SIRACUSA V. – **La propriété antigène du sperme du groupe A. (Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).**

La notion que le sperme possède des qualités groupe-spécifiques analogues à celles des globules rouges du même individu est de date assez récente. En 1926, *Yamakami* observa qu'en mélangeant un sérum isoagglutinant avec du sperme, même si dépourvu de spermatozoïdes par centrifugation, les isoagglutinines correspondant aux agglutinogènes présents dans les globules rouges du donateur de sperme perdaient leur efficacité; et *Landsteiner* et *Levine*, avec des expériences d'absorption au moyene de sérums immuns groupe-spécifiques, obtenus du lapin et absorbés avec des globules *O*, démontraient la présence d'un antigène groupe-spécifique chez les spermatozoïdes. *Yamakami* avait indiqué la possibilité de l'application pratique médico-légale de cette propriété du sperme, aux fins de le

diagnostic individuel des taches spermatiques; successivement, en 1929, *Krainskaja-Ignatowa* a fixé les règles pour ce diagnostic individuel, au moyen d'essais d'absorption et de restitution en traitant du sperme même sec avec du sérum anti-*A-B*, ainsi que je l'ai proposé, dans le laboratoire de *Lattes*, pour le diagnostic individuel des taches de sang en utilisant la substance isoagglutinable. D'après ces recherches le diagnostic individuel du sperme est resserrée dans les limites d'un diagnostic de groupe, tandis que d'après les observations de *Dervieux* (1921-1923) le diagnostic plus strictement individuelle du sperme, ainsi que du sang, aurait pu être basé sur des essais de précipitation avec du sérum antisperme. Cet auteur avait observé qu'un antisérum de lapin, obtenu par injection de sperme humain frais d'un seul individu, donnait lieu à un précipité avec dilutions de sperme et de sang du fournisseur du sperme immunisant plus élevées qu'avec les dilutions de sperme et de sang d'autres individus. Les expériences analogues de *Süssmann* (1925) ont conclu que le sérum antisperme réagit d'une manière individuelle seulement avec le sperme du fournisseur mais non avec son sang. Une fois constaté par *Yamakami* et par *Landsteiner-Levine* que le sperme contient des antigènes groupe-spécifiques parallèles à ceux du sang, ces mêmes AA. eurent le doute que les réactions individuelles de *Dervieux* et de *Süssmann* ne fussent que des réactions de groupe.

Steusing a également confirmé récemment (1930), au moyen de l'absorption avec des agglutinines anti-*A* et anti-*B*, qu'il existe un étroit parallélisme entre les eritrocites et les spermatozoïdes d'un même individu. En outre immunisant des lapins avec du sperme *A*, il obtint des sérums à titre très élevé d'ambocepteurs hemolytiques pour les éritrocites de mouton, qui contiennent, comme la substance humaine *A*, le dit antigène hétéro-génétique lipoïde de *Forssman*, titre qui résulta toujours plus élevé des titres des sérums de lapins immunisés avec les éritrocite du même individu; deux spermes du groupe *O* et trois spermes du groupe *B* ne déterminèrent pas chez les lapins une augmentation de titre hémolytique pour les éritrocites de mouton.

Avant que toutes ces recherches fissent étendre au sperme les notions sur les propriétés groupe-spécifiques du sang, *Casagrandi*, *Bodnar* et *Kammiker*, *Macht* et *Elxers* avaient étudié l'action des sérums humains sur les spermatozoïdes humains, notant des différences d'action, quelquefois importantes, qui furent expliquées de diverses manières (grossesse, immunité antispermatique, etc.). *Lattes* (1929) a émis l'hypothèse que les actions spermotoxiques des sérums puissent dépendre d'un antagonisme groupe-spécifiques, et relève l'importance de la question également au point de vue génétique. En effet, attendu que la recherche génétique nous montre que dans la maturation des gamets il se forme chez les

individus hétérozygotes des qualités génétiques diverses de spermatozoïdes, il est logique de considérer qu'à des qualités génétiques opposées puissent correspondre des diversités de propriétés biochimiques-physiologiques, constatables par la mort (ou perte de mobilité) d'une partie des spermatozoïdes, et même de tous, lorsqu'on leur ajoute certains sérums. On sait que d'après la théorie héréditaire actuellement suivie, celle de *Bernstein*, relativement aux quatre phénotypes représentés par les groupes sanguins, *O* (anti-*A-B*), *A* (anti-*B*), *B* (anti-*A*), *AB* (*o*), il existe six génotypes: *RR* (groupe *O*) homozygote récessif, *AO* et *BO* dominant hétérozygote, *AA* et *BB* dominants homozygotes, *AB* dominants hétérozygotes. En examinant des individus certainement hétérozygotes, sérum anti-*A* devrait tuer moitié (*A*) des spermatozoïdes de l'hétérozygote *AO* et de l'hétérozygote *AB*; sérum anti-*B* devrait tuer moitié (*B*) des spermatozoïdes de l'hétérozygote *BO* et de l'hétérozygote *AB*; sérum anti-*A-B* devrait tuer moitié (respectivement *A* ou *B*) des spermatozoïdes des hétérozygotes *AO* et *BO*, et tous les spermatozoïdes de l'hétérozygote *AB*. Les recherches de *Lattes* sur les spermatozoïdes d'un hétérozygote *AO* et d'un hétérozygote *AB*, additionnés de sérums anti-*A*, anti-*B* et anti-*A-B*, ont donné un résultat négatif quant au problème proposé, en tant que les spermatozoïdes se sont comportés tous uniformément en présence des divers sérums normaux, conservant longtemps leur mobilité. Toutefois *Lattes* n'exclue pas la possibilité de différencier objectivement deux qualités de spermatozoïdes dans le même sperme, et cela peut-être avec les immuns sérums qui sembleraient avoir une activité spermotoxique plus intense que celle des sérums normaux.

Krainskaja-Ignatowa également et en même temps que *Lattes*, a vu que les sérums normaux de groupe antagoniste n'ont pas d'action sur les spermatozoïdes.

A propos des immuns sérums groupe-spécifiques indiqués plus haut, je rappellerai comment leur élaboration est dûe surtout à *Hooker* et *Anderson*. Ces AA. ont traité des lapins avec des hématies humaines de chaque groupe et obtinrent des sérums qui agglutinaient les hématies des quatre groupes, c'est-à-dire anti-homme en général, mais, en absorbant ces sérums avec une qualité d'hématies déterminées, ils purent avoir, quoique non d'une manière constante, des sérums groupe-spécifiques qui réagissaient à peu près comme des sérums humains normaux.

De cette manière *Hooker* et *Anderson* ont trouvé également dans les hématies du groupe *O* un antigène particulier. Si le sperme montrait par voie immunisante les mêmes propriétés des globules rouges, on devrait avoir également du sperme des anti-sérums groupe-spécifiques, qui, outre les actions hémoagglutinantes, pourraient avoir des actions spermotoxiques spécifiques de groupe; et si pour l'immunisation on employait du

sperme d'individus hétérozygotes *AO*, *BO*, *AB*, et par suite avec des spermatozoïdes contenant par moitié *A* et par moitié *O*, ou *B* et *O*, ou *A* et *B* on aurait lieu de s'attendre à des anti-sérums groupe-génético-spécifiques.

Cela dit, je me suis proposé d'immuniser des lapins avec du sperme d'individus de divers groupes, dans le triple but:

1° de confirmer l'analogie de groupe entre antigènes sanguins et spermatiques, au moyen de la production d'anti-sérums groupe-spécifiques, en injectant aux lapins du sperme au lieu de globules rouges d'un groupe donné;

2° de voir si les réactions d'individualité de *Dervieux* et de *Süssmann* ne seraient pas, au contraire, que de simples réactions de groupe;

3° de chercher si l'immunisation avec un sperme déterminé ne confère pas au sérum de lapin des propriétés spermotoxiques spécifiques ou du moins plus marquées vers l'un ou l'autre type de spermatozoïdes génétiquement admissibles dans un phénotype déterminé ou groupe sanguin. En d'autres termes: I) l'immunisation avec du sperme du groupe *O* aurait pu donner des spermotoxines moins actives (anticorps spermatiques génériques) sur des spermatozoïdes du groupe *AB*; plus énergiques par moitié (*O*) des spermatozoïdes des groupes *A* et *B* hétérozygotes (*AO* et *BO*), et pour tous les spermatozoïdes (*OO*) du groupe *O*, homozygote récessif (*RR*), en analogie au fait que même les éritrocites non agglutinables (*O*) produisent chez le lapin des anticorps spécifiques (*Hooker-Anderson*); II) l'immunisation avec du sperme du groupe *A* hétérozygote (*AO*), aurait pu donner des spermotoxines plus énergiques pour tous les spermatozoïdes du même groupe *A* hétérozygote (*AO*), pour tous les spermatozoïdes du groupe *O*, pour la moitié (*A*) des spermatozoïdes du groupe *AB*, pour la moitié (*O*) des spermatozoïdes du groupe *B* hétérozygote (*BO*); III) l'immunisation avec du sperme du groupe *B* hétérozygote (*BO*), aurait pu donner des spermotoxines plus energiques pour tous les spermatozoïdes du même groupe *B* hétérozygote (*BO*), pour tous les spermatozoïdes du groupe (*O*), pour la moitié (*B*) des spermatozoïdes du groupe *AB*, pour la moitié (*O*) des spermatozoïdes du groupe *A* hétérozygote (*AO*); IV) l'immunisation avec sperme du groupe *AB*, hétérozygote, aurait pu donner des spermotoxines plus énergiques pour tous les spermatozoïdes du groupe même *AB*, pour la moitié (*A* ou *B*) des spermatozoïdes des groupes *A* ou *B* hétérozygotes (*AO* et *BO*), et moins actives (anticorps spermatiques génériques) pour les spermatozoïdes du groupe *O*. Mais je ne me dissimulais pas que l'immunité d'espèce ou d'organe (anti-sérum spermatique humain) aurait pu masquer ces éventuelles délicates réactions, pour lesquelles les sérums immuns antiéritrocitiques, auxquels fait allusion *Lattes*, et dans lesquels

font défaut les anticorps génériques pour le sperme, semblent à priori mieux utilisables. Quoi-qu'il en soit, attendu que les réactions groupe-génético-spécifiques auraient pu être notables pour une plus grande rapidité d'action relativement à l'action spermotoxique aspécifique de groupe, on pouvait tenter l'essai, ayant à sa disposition un sérum antisperme, en vue de la démonstration objective de deux propriétés différentes de groupe admises génétiquement chez les spermatozoïdes de l'individu hétérozygote.

J'observe qu'avant de recourir à ces essais directs sur les spermatozoïdes, j'aurais pu avoir ou non la démonstration par voie d'immunité du génotype des hétérozygotes d'après les essais d'agglutination entre sérum antisperme et globules rouges des divers groupes. En effet au sujet de la première question que je me suis posée, de confirmer l'analogie de groupe entre antigène sanguin et spermatique, au moyen de la production d'anti-sérums groupe-spécifiques en injectant au lapin du sperme au lieu de globules rouges d'un groupe donné, mes expériences avaient un point de contact avec celles de *Hooker-Anderson*, citées plus haut. Or si le sperme révélait, par voie immunitaire, les mêmes propriétés des hématies, l'immunisation avec sperme de *A* hétérozygote, donc avec des spermatozoïdes par moitié *A* et par moitié *O*, pourrait donner un anti-sérum spécialement agglutinant les hématies *A* et *O* et non *B*. Dans ce but j'ai injecté du sperme d'individu *A* hétérozygote, procédant ensuite d'une manière semblable à celle de *Hooker* et *Anderson*.

Du reste le résultat négatif des essais soit sur des globules soit sur des spermatozoïdes ne serait pas sans importance comme contribution à la démonstration inverse, que la disjonction mendolica des caractères ne se réfléchit pas sur des qualités biochimiques concrètes des spermatozoïdes, de manière à donner lieu à deux qualités de spermatozoïdes, non seulement génétiquement, mais encore chimiquement ou pour ainsi dire phénotypiquement diverses.

Mes expériences sur cet ensemble de recherches ne sont pas encore étendues, quant à présent, à tous les groupes sanguins, en tant que des quatre lapins sur lesquels j'avais commencé l'immunisation, deux avec sperme *A* et deux avec sperme *B* et *O*, ces deux derniers et l'un des premiers, notablement réduits de poids, moururent à l'improviste pendant l'immunisation, de telle sorte que pour le moment je ne puis référer que sur un seul lapin, celui immunisé avec sperme de *A* (*O*).

***

Un lapin du poids de Kg. 1,302, après titrage du pouvoir agglutinant de son sérum envers de globules déterminés *A*, *B*, *O*, reçoit dans le

péritoine, à des intervalles de 3-4 jours, quatre injections de sperme frais toujours du même individu *A*, certainement hétérozygote pour avoir un parent *O*, et en quantité de cc. 4-4,5 dans les deux premières injections, cc.2 dans les deux dernières, dilué en parties égales avec solution physiologique pour en diminuer la viscosité, et tiède. Après six jours de la dernière injection le lapin pèse Kg. 1,035, et se trouve très affaibli. Sans attendre davantage, on le saigne, pour éviter la mort spontanée de l'animal. On laisse le sang se coaguler, puis on décante le sérum, qui est enfermé dans des ampoules.

1° – Essais d'agglutination de globules *O*, *A*, *B*, après absorption avec globules *O*, *A*, *B*.

Des sédiments globulaires, lavés, de sang des groupes *O*, *A*, *B*, en quantité de cc. 0,2 par groupe, sont partiellement additionnés de cc. 0,1 d'anti-sérum. Après 48 heures de séjour dans le frigorifère, on aspire dans des pipettes les trois sérums absorbés, de chacun d'eux on fait des dilutions progressives et chaque dilution de chaque sérum est répartie dans trois éprouvettes d'une quantité de cc. 0,1 par éprouvette. A chacune des trois éprouvettes d'une dilution donnée on ajoute cc. 0,1 de suspension globulaire à 5% (sol. phys. 0,9%) de sang respectivement des groupes *O*, *A*, *B* (de telle sorte qu'en définitive les dilutions de sérum résultent redoublées); puis les éprouvettes sont conservées dans un thermostat à 25° pendant une heure. Avec la même technique on a titré, précédemment, le sérum normal du lapin, quant à son pouvoir étéro-agglutinant envers les mêmes globules *O*, *A*, *B*, ainsi que l'anti-sérum non absorbé. La lecture est faite dans le microthermostat à la température de 25°, après avoir agité le contenu de chaque éprouvette, et disposant en goutte pendante, l'une à côté de l'autre, trois ansates du contenu des trois éprouvettes avec *O*, *A*, *B*, pour chaque dilution. Les globules employés pour les essais d'absorption et ceux employés pour les essais d'agglutination sont toujours des mêmes individus (mâles) et ont été prélevés toujours au moment de l'emploi.

De ces essais résulte la production d'anticorps énergiques pour *O*, *A*, *B*, mais avec le titre d'anti-*A* double (1:1024) par rapport à celui de anti-*B* et d'anti-*O* (1:512). L'absorption de l'anti-sérum avec globules *O* ou *B* laisse plus active dans le sérum l'immunagglutinine anti-*A*, laquelle est au contraire absorbée par les globules *A*. L'incomplète soustraction des anticorps spermatiques humains par les globules *O* et *B*, rend peu utilisable cet anti-sérum comme immun-sérum groupe-spécifique. Reste toutefois confirmée par voie immunitaire l'analogie entre

antigène sanguin et spermatique du groupe *A*. Bien mieux les dits essais font relever une spécificité de l'anti-sérum spermatique envers les globules *A* supérieure à celle des sérums anti-éritrocitiques de *Hooker-Anderson*, et cela pour le fait que les hématies *A* ont absorbé d'une manière complète seulement l'immunagglutinine anti-*A*, tandis que les anti-sérums groupe-specifiques de *Hooker-Anderson*, absorbés par les hématies d'immunisation, perdent aspécifiquement tous les anticorps humains en général.

Au sujet de la différentiation de *O*, admis chez les spermatozoïdes de l'hétérozygote *A* fournisseur du sperme, sa présence ne résulte pas démontrée par la voie immunitaire. Etant donné que le seul liquide spermatique, dépourvu de spermatozoïdes par centrifugation (*Yamakami*, *Krainskaja-Ignatowa*), a des propriétés groupe-spécifiques, il y aurait lieu de tenter l'immunisation avec des injections de seuls spermatozoïdes, enlevant l'excès d'antigène groupe-spécifique.

2° – Essais de précipitation avec sperme et sang.

J'ai effectué des essais de précipitation avec anti-sérum et dilutions progressives de sperme de deux individus de groupe *A*, l'un desquels fournisseur du sperme injecté au lapin, et d'un individu pour chacun des groupes *B* et *O*. A cc. 0,2 de solution spermatique en solution physiologique contenus dans de petites éprouvettes, j'ajoutais avec une pipette, au fond de l'éprouvette, cc. 0,2 d'anti-sérum. Je n'ai pas obtenu de différences sensibles d'étroite individualité, ni de groupe. A la dilution maxima du sperme 1: 1000, l'anti-sérum donnait une réaction zonale à peine appréciable et tardive avec chaque sperme employé.

Pour les essais avec le sang j'ai employé de l'anti-sérum et des dilutions de sérum humain dans les susdites quantités respectives. Le sérum appartenait à deux individus mâles de groupe *A* (dont l'un fournisseur du sperme injecté), et à un individu pour chacun des groupes *B* et *O*, eux aussi mâles pour éviter les différentes intensités de réaction avec du sérum d'homme ou de femme, indiquées par *Dervieux* (ce sont les mêmes individus qui fournirent le sperme pour les essais précédents). L'anti-sérum a réagi d'une manière plus intense qu'avec le sperme et a produit une réaction zonale immédiate (5′ à 12°) et intense avec tous les sérums jusqu'à la dilution de ceux-ci 1: 1000. De la dilution 1: 2000 et au-delà la réaction a retardé un peu et a été moins intense avec les sérums *B* et *O*, respectivement à la réaction avec les deux sérums *A*. A la dilution 1: 20.000 la réaction était encore bien évidente en 20′ environ et d'égale intensité dans les deux sérums *A*; elle commençait au contraire

à devenir douteuse avec les sérums *B* et *O*. A la dilution 1 : 40.000 la réaction était négative pour tous les sérums en une demi-heure.

Il ne me résulte donc pas que la réaction précipitante des sérums antispermatiques démontre l'individualité du sperme et du sang. Pour le sérum du sang, à fortes dilutions, il n'est appréciable qu'une différence de groupe entre le donateur du sperme et d'autres individus.

3° – Action spermotoxique.

a) Dans trois éprouvettes contenant cc. 0,1 d'anti-sérum, chauffé à 37°, étaient ajoutés cc. 0,05, par éprouvette, de sperme d'individus *O*, *A* hétérozygote (pour avoir un parent *O*), *B* hétérozygote (pour avoir un fils *O*). Ces spermes étaient éjaculés depuis deux heures environ et, aussitôt que possible, placés dans le thermostat.

b) Dans trois éprouvettes contenant cc. 0,1 de sérum, à 37°, de lapin normal (contrôl), étajent ajoutés cc. 0,05, par éprouvette, de sperme de *O*, *A* (*O*), *B* (*O*), comme ci-dessus.

c) Dans trois éprouvettes contenant cc. 0,1 de solution physiologique 0,9 % (contrôle) chauffée à 37°, étaient ajoutés cc. 0,05, par éprouvette, de sperme de *O*, *A* (*O*), *B* (*O*), comme ci-dessus.

Puis avec le contenu des trois éprouvettes de *a*), *b*), *c*) portant du sperme *O*, on remplissait les excavations d'un porte-objets à trois compartiments et on les recouvrait avec de larges couvre-objets. On procédait de même pour les six autres éprouvettes, contenantes sperme *A* et *B*, en préparant une seconde lame à trois compartiments pour les liquides à sperme *A*, et une troisième à trois compartiments pour les liquides avec sperme *B*. L'observation était commencée tout de suite dans le microthermostat à 37°.

L'éventuelle action spermotoxique spécifique, dans la combinaison expérimentale en question, aurait dû être constatée par suite d'une durée sensiblement plus grande de la mobilité d'une partie des spermatozoïdes de *B* (*O*), lorsque le sérum eût eu spermotoxines plus énergiques pour la substance *A* et pour la substance *O*. Si au contraire le sérum avait eu des spermotoxines plus énergiques seulement pour les spermatozoïdes portant la substance *A*, la preuve des deux qualités de spermatozoïdes, dans cette combinaison expérimentale, n'aurait pu être obtenue : en effet on aurait dû constater que seulement une partie des spermatozoïdes de *A* (*O*) était tuée avant tous les autres spermatozoïdes, appréciation quantitative pratiquement impossible en présence de spermatozoïdes immobiles au préalable.

En observant j'ai constaté qu'une partie des spermatozoïdes était

déjà immobile dans toutes les préparations. Dans les trois préparations avec anti-sérum, les spermatozoïdes mobiles des trois groupes *O*, *A*, *B*, au bout de 10′, sans de sensibles différences de préparation à preparation, perdirent tous leur mobilité et diminuèrent en nombre, par lisi. Il n'a pas été possible d'apprécier, c'est-à-dire une plus grande durée de mobilité chez les spermatozoïdes du groupe *B*. Dans les six préparations de contrôle, avec sérum de lapin normal et avec solution physiologique, les spermatozoïdes mobiles se conservèrent tels quels pendant quelques heures, indistinctement.

Le sérum antisperme *A* (*A O*) n'a donc démontré qu'une action spermotoxique générique. L'anti-sérum ne m'a pas suffi pour instituer des essais avec ses dilutions.

Conclusions et resumé. – On confirme par la voie d'immunisation l'analogie entre l'antigène *A* du sang et l'antigène *A* du sperme. Les ainsi dites réactions d'individualité du sang et du sperme par le sérum antispermatique, confirmées seulement pour le sang, ne paraissent être que des réactions de groupe. Il n'est pas démontré que dans l'anti-sérum obtenu avec sperme de *A* hétérozygote (*AO*) une éventuelle action spermotoxique capable de distinguer les deux sortes de spermatozoïdes, génétiquement diverses, chez les individus hétérozygotes. L'immunisation avec sperme d'hétérozygote *AO* n'a pas donné d'agglutinine spécifique pour hématies *O*, mais seulement pour hématies *A*.

OLIVI G. – **Ereditarieté de groupes sanguins.** (Observations et notes).

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

La contribution apportée en ces dernières années par les biologistes de toutes les nations sur le chapitre des groupes sanguins est extraordinairement riche et complexe; il est donc fort difficile d'apporter dans ce champ des nouveautés. Il suffira de parcourir la très riche et peut-être complète bibliographie annexée à l'oeuvre de *Lattes* sur l'individualité du sang, pour s'en rendre compte.

Profitant de la prolificité bien connue des familles de la Vénitie et surtout de celles de la province de Trévise, il m'a semblé qu'il pourrait être utile de présenter deux arbres généalogiques, dont l'un (voir fig 2) avec 66 sujets est le plus fourni parmi ceux publiés à ce jour (1), lesquels

(1) L'arbre généalogique le plus fourni était jusqu'à présent celui de *Keynes*, publié par *Lattes*, avec 59 personnes.

permettent quelques considérations sur le thème de la propriété d'hérédité commune des phénotypes sanguins et de celle particulière relative aux accouchements multiples.

Dans les deux arbres représentés par les fig. 1 et 2, on peut observer qu'aucune exception ne s'est présentée aux règles établies sur l'hérédité des groupes sanguins soit par *v. Dungern-Hirszfeld*, soit par *Bernstein*.

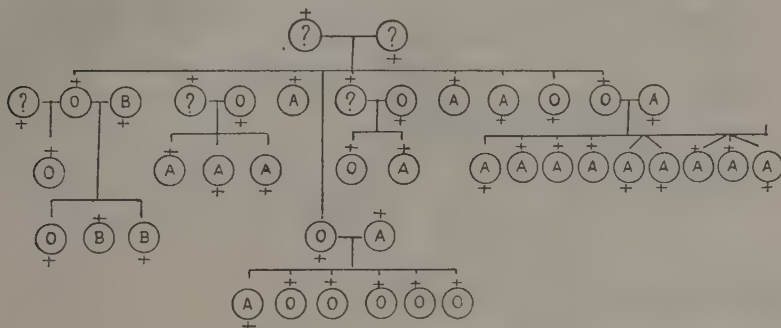


Fig. 1. – Arbre généalogique avec 36 sujets déterminés. Les jumeaux et les trijumeaux sont monovulaires.

La dernière constellation familière de la fig. 1 fait observer un fait, que je considère comme assez exceptionnel, c'est-à-dire la présence chez tous les neuf fils, nés de la combinaison $O \times A$, du groupe sanguin maternel; ce fait ne se reproduit que d'une manière seulement relative dans la 3e constellation familière de la même figure, dans laquelle seulement le premier né, femelle, appartient au groupe paternel, tandis que les cinq nés mâles successifs appartiennent au groupe de la mère.

Une aussi forte prédominance du groupe maternel ne s'observe dans aucun autre des groupes familiers, pourtant nombreux. Nous devons admettre, par suite, que tous les nés de la 5e famille appartiennent au groupe *A dominant*, qui n'est pas pur, et par conséquence avec le groupe *O recessif* latent, pour être en harmonie avec les lois de Mendel.

Dans les deux arbres généalogiques reproduits on observe quelques accouchements multiples, 4 accouchements doubles et un autre triple.

Déjà quelques auteurs (*Canelli*, *Barsk* et d'autres) ont observé que les jumeaux appartiennent au même groupe, lorsqu'ils sont monovulaires; pour ceux biovulaires *Canelli*, qui établit le groupe de 39 couples de jumeaux, affirme qu'ils peuvent ne pas présenter le même groupe.

Les sujets provenant d'accouchements multiples, examinés par moi, dépassaient tous l'âge d'un an, appartenaient en partie au même oeuf

(monovulaires) et ceux-ci appartenaient au même groupe; du même groupe étaient également les biovulaires *B* de la 2[me] figure et les trijumeaux monovulaires; nous avons donc une confirmation du fait également en ce qui concerne ces derniers.

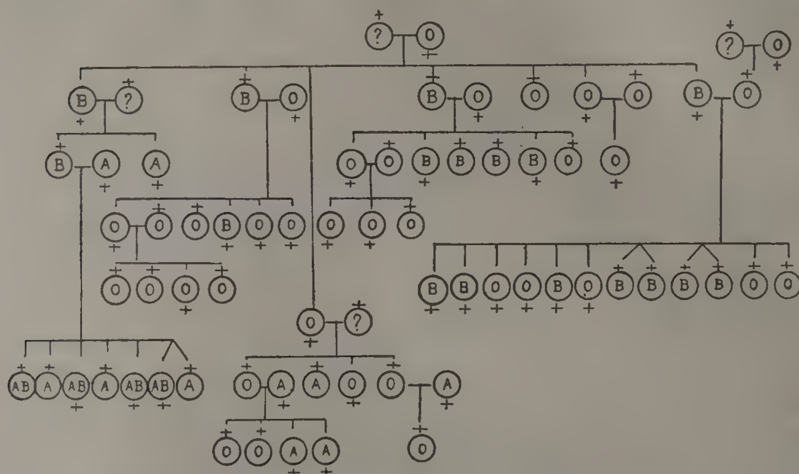


Fig. 2 (1). – Arbre généalogique avec 66 sujets déterminés.
Les jumeaux du groupe *B* sont biovulaires, ceux *AB* et *A* sont douteux.

Nous devons observer en outre que dans nos cas, bien que peu nombreux, le groupe sanguin des jumeaux et trijumeaux est égal, sauf pour une demi paire (biovulaire) au groupe maternel. Il semble que dans ces cas non seulement le groupe auquel appartiendront les nouveau-nés est toujours unique ou, bien mieux, il y ait toujours une égale fusion, ou une égale disjonction des chrômosomes appartenant aux deux cellules sexuelles, mais qu'il y ait, au moins dans le plus grand nombre des cas, une *majoration* des caractères féminins.

Il s'agit naturellement d'hypothèses, que seulement une longue et nombreuse série de faits analogues, pourra confirmer.

Le fait que chez les jumeaux et chez les trijumeaux monocorides seulement soit absolue l'appartenance au même groupe sanguin peut justifier l'idée que l'orientation vers le groupe sanguin définitif des « à naître » soit donnée par l'oeuf plutôt que par les deux ou trois cellules mâles, qui, dans ces cas, le fécondent.

---

(2) Dans la séance du Congrès l'A. a apporté à l'arbre généalogique de la fig. 2 l'augmentation d'un sujet féminin du groupe *O* dans la 3[me], génération du quatrième groupe familier, entre la femelle *B* et le mâle *O*. De la sorte cet arbre atteint le nombre de 67 sujets bien déterminés.

NOTE. — *Je n'ai pas exposé ici mes procédés de technique; il me semble d'en être dispensé du moment qu'il n'y a aucune exception à la règle établie sur l'hérédité des groupes sanguins* (*v.* Dungern-Hirszfeld *et* Bernstein), *dans mes déterminations; ma technique, qui me donne confiance contre toute erreur possible ou fausse interprétation, pourra être éventuellement exposée au Congrès et fera partie d'un autre mémoire.*

BIBLIOGRAPHIE

Lattes L., « L'individualité du sang » Masson et C.ie, Paris 1929.
Canelli, « Gruppi sanguigni nei gemelli » La Clinica Pediatrica, 1925.
Mino e *Garlasco*, « I gruppi sanguigni dei gemelli » Minerva Medica, 1923.
Gauther, « Gruppenweise Hämagglutination in Drillingen ». Zentralbl. f. Gynäkol., 1925.
Barski, Dnepropetrowski medizinski Journ., n. 1-2, 1927.
Wiechmann u. *Paal*, « Die Blutgruppenbestimmung in ihre Bedensung für die Zwillingsforschung ». Munch. med. Wochenschr. 74, 271, 1927.

USUELLI F. — **Recherches sur l'hémoisoagglutination chez les bovins, les poulets et les dindons.** (Meleagris gallopavo L.).

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Les études sur les phénomènes d'hémoagglutination chez les animaux sont relativement rares si on les compare à celles faites sur l'homme. Pour la littérature complète sur l'argument je renverrai au travail de *Cuboni* (1) sur les isohémoagglutinines chez le cheval, au volume de *Lattes* (2) et à une revue synthétique que je publierai prochainement dans « Profilassi ».

Chez le *Bos taurus* (qui, après l'*Equus caballus*, est l'animal le plus étudié à ce point de vue), les résultats obtenus jusqu' à présent sont très discordants. *Ottenberg* et *Friedmann* (3), en expérimentant sur 11 animaux, sont parvenus à la conclusion que chez les bovins il n'existe qu'une seule agglutinine et un seul agglutinogène; *Fishbein*, d'après les résultats obtenus en expérimentant sur 60 animaux, considéra (4) que les bovins étaient pourvus d'isoagglutinine, mais que l'on ne pouvait établir une division bien nette en groupes sanguins. *Panisset* et *Verge* (5) affirment

(1) *Cuboni*, « Boll. Ist. Sieroter. Mil. », 1928.
(2) *Lattes*, « L'individualité du sang ». Paris, 1929.
(3) *Ottenberg* et *Friedmann*, « Journ. exp. Med. », 1911.
(4) *Fishbein*, « Journ. infect. dis. », 1913.
(5) *Panisset* et *Verge*, « C. R. Soc. Biol. », 1922.

que les phénomènes d'isohémoagglutination sont chez les bovins plus fréquents et plus intenses que chez les chevaux et qu'il y a des bovins dont le sérum est capable d'agglutiner les hématies de tous les bovins, même les leurs.

Weszeczki (1) considère au contraire que le boeuf est dépourvu d'isohémoagglutinine; et, dans le même sens, tendent les récentes recherches de *Schermer* effectuées sur 50 bovins.

Chez le *Coq domestique* les recherches sont encore plus rares. *Weszeczki*, sur 8 poulets a recherché en vain les isohémoagglutinine. *Caridroit* également et *Régnier* (2) n'ont pas rencontré de phénomènes d'ischémoagglutination, soit chez les poulets de la même race que de races différentes (le nombre des exemplaires étudiés n'est pas rapporté).

Chez le dindon (Meleagris gallopavo L.) manquent, que je sache, des recherches à leur sujet.

***

Nos expériences ont été effectuées sur 209 bovins (de l'Abattoir de Milan), 70 poulets et 50 dindons (d'un éleveur de Milan). Pour nous mettre à l'abri d'éventuelles erreurs dues à la pseudoagglutination nous avons adopté l'emploi de la solution lécitinée à la *Lattes* et de dilutions du sérum 1 à 2. Nous avons pratiqué également des expériences de contrôle, employant pour la suspension globulaire (S. G.) la solution physiologique simple au lieu de celle lécitinée. Dans d'autres expériences de contrôle nous nous plaçames dans les conditions les plus favorables au développement du phénomène de pseudoagglutination: non seulement nous n'employâmes pas la suspension lécitinée, mais nous réduisimes la dilution du sérum de 1 à 2 à 1 à 1,2 (0,5 cc. de sérum et deux gouttes de suspension globulaire). Nous fîmes le mélange sérum-hématies dans de petites éprouvettes: les résultats étaient lus après 12 heures de permanence à la température du milieu ambiant (qui varia de 22° à 26°). Nous effectuâmes également des expériences de panagglutination [à (0°) — (+ 2°) et à (+ 4°) — (+ 7°)].

Nous pouvons synthétiser les résultats des notres expériences de la manière suivante.

Bovins.

Essai d'isohémoagglutination. – Sur 3881 combinaisons sérohématiques (S. G. lécitinée; dilution du sérum 1 à 2) 42 résultèrent positives, c'est-à-dire 1,08%.

---

(1) *Weszeczky*, « Bioch. Zeitschr. », 1920.
(2) *Caridroit* et *Régnier*, « C. R. Soc. Biol. », 1929.

Les résultats des essais de contrôle (712 combinaisons) effectués en employant pour la S. G. la solution physiologique simple (toujours avec dilution du sérum 1 à 2) ont été identiques à ceux obtenus avec la solution lécitinée.

La distribution des dits 42 essais positifs démontre clairement l'existence chez les bovins (ou, pour être plus prudents, chez les 209 bovins examinés par nous) de *trois groupes sanguins* que, en adoptant les symboles d'usage courant, nous pourrons distinguer de la manière suivante:

I Groupe (Ao). – Hématies qui se laissent agglutiner par le sérum bovin du II Groupe.

Sérum dépourvu d'agglutinines.

II Groupe (Oα). – Hématies qui ne se laissent pas agglutiner par aucun sérum.

Sérum qui agglutine les hématies du I Groupe.

III Groupe (Oo). – Hématies qui ne se laissent pas agglutiner par aucun sérum.

Sérum dépourvu d'agglutinines.

Chez les animaux que nous avons examinés le III Groupe (Oo) s'est montré le plus fréquent. Le pourcentage des trois groupes sanguins dans les 209 bovins a été en effet le suivant:

I Groupe (Ao): 11,48 % — II Groupe (Oα): 4,30 % — III Groupe (Oo): 84,22 %.

En prélevant le sang nous avons tenu compte de la race à laquelle appartenaient les bovins: 131 animaux étaient de la race Podolique (44 résultèrent importés de la Hongrie; 76 de la Yougoslavie; 11 étaient de la race Romagnole del Piano, race qui, comme on le sait, est également d'origine podolique); des autres 78 animaux 66 étaient de race Schwitz et 12 de race Hollandaise.

De nos recherches il semblerait que la race n'est pas sans influence dans la distribution des groupes sanguins.

En effet, chez les bovins étudiés par nous, la présence de la propriété agglutinable (I Groupe) et de celle agglutinante (II Goupe) a été à peu près exclusive des animaux d'origine podolique. Tous les autres animaux (Schwitz ou Hollandais) appartenaient au III Groupe, à l'exception d'un bovin Schwitz appartenant au I Groupe.

Peut-être la distribution différente des groupes sanguins dans les différentes races pourrait expliquer les résultats apparemment contradictoires auxquels sont parvenus les divers Auteurs. On ne pourra arriver à des conclusions certaines en se bornant à étudier l'isohémoagglutination sur quelques dizaines, ni même quelques centaines d'animaux: il faudra faire des recherches sur un grand nombre de lots de bovins appartenant

à diverses races bien définies et pures autant que possible; l'on devra étudier ensuite les réactions d'isoagglutination entre les hématies des sujets appartenant à une race déterminée et sérum de sujets d'autres races et viceversa; ensuite on devra étudier l'isohémoagglutination de divers produits de croisements.

Essais de pseudoagglutination. – Sur 712 combinaison sérohématiques obtenus en employant pour la S. G. la solution physiologique simple et avec dilution du sérum de 1 à 1,2 on a obtenu 7 résultats positifs et 1 incertain; tous les autres ont été négatifs. Des 7 réactions positives 2 furent indubitablement des réactions de réelle isoagglutination les ayant trouvées également avec du sérum dilué et avec S. G. lécitinée.

On peut en conclure que chez les bovins la pseudoagglutination peut être constatée, mais qu'elle est peu fréquente (dans nos recherches la proportion des essais positifs de pseudoagglutination a été d'environ 0,70%).

Essais de panagglutination. – Sur 1296 combinaison séro-hématiques observées après une permanence de 12 heures à 0° — (+ 2°) on a constaté 25 réactions positives et 7 de résultat douteux. Dans nos recherches le pourcentage des réactions positives de panagglutination a été de 2% environ.

Sur 324 réactions effectuées à (+ 4°) — (+ 7°) on obtint les mêmes résultats qu'avec les combinaisons séro-hématiques obtenues à 0° — (+ 2°).

Poulets et dindons.

Les résultats obtenus en faisant des expériences sur ces deux sortes de volatiles ont été assez semblables entr'eux de telle sorte que pour être bref je crois opportun de les résumer ensemble.

Essais d'isoagglutination. – *Tous eurent des résultats négatifs*, aussi bien faits avec la S. G. lécitinée (1228 combinaisons séro-hématiques observées chez les poulets et 836 chez les dindons) qu'en employant pour la S. G. la solution physiologique simple (648 combinaisons chez les poulets et 512 chez les dindons).

Essais de pseudoagglutination. – Avec une dilution de sérum de 1 à 1,2 et en employant pour la S. G. la solution physiologique simple nous avons obtenu: chez le poulet, sur 661 combinaisons séro-hématiques, 8 résultats positifs et 5 douteux; chez le dindon, sur 512 combinaisons, 9 réactions positives et 4 douteuses. La proportion des réactions positives de pseudoagglutination a donc été d'environ 1,9% chez le poules et de 2,5% chez le dindon.

Essais de panagglutination. – Chez les poulets: sur 394 combinaisons séro-hématiques effectuées à 0° — (+ 2°) on a obtenu 5 résultats nettement

positifs et 5 douteux; dans les mêmes combinaisons, mais faites à (+ 4°) — (+ 7°) on obtint 32 résultats positifs et 6 douteux.

Chez les dindons: sur 324 combinaisons effectuées à 0° — (+ 2°) on a obtenu 3 résultats positifs et 2 douteux. Dans les mêmes combinaisons séro-hématiques à (+ 4°) — (+ 7°) on obtint au contraire 18 résultats positifs et 2 douteux.

Aussi bien chez les poulets que chez les dindons on a constaté un fait singulier (que je n'ai pas obtenu avec les bovins): la panagglutination a été nettement plus marquée à une température supérieure à + 4° que voisine de 0°.

Aussi bien chez les bovins que chez les poulets et chez les dindons j'ai rencontré quelques cas d'autoagglutination, quelquefois dûs à la pseudoagglutination, et d'autres fois à la panagglutination.

Ist. Sieroterapico Milanese: Directeur Prof. S. Belfanti – Laboratoires Scientifiques de la Direction: Directeur Prof. A. Zironi – Laboratoire de Physiologie du R. Istituto Sup. di Medicina Veterinaria: Directeur Prof. A. Pugliese.

BIANCALANA L. et TENEFF S. – **Comportement de la reserve alcaline et du pH après transfusions de sang compatible et incompatible.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Les perfectionnements realisés dans la technique de la transfusion du sang ont réduit la fréquence des troubles qui, encore il y a cinq ou six ans, accompagnaient cette intervention, dans un pourcentage très haut de cas. Néanmoins, n'est point diminué l'intérêt pour l'étude de ces états morbides qui suivent quelque fois la transfusion et qui ont une pathogénie encore discutée. Ceux-ci se divisent, au point de vue de l'époque de leur manifestation et par leur caractère clinique, en deux groupes distincts: troubles immédiats et troubles tardifs. Les réactions immédiates sont d'une gravité impressionante et parfois ont une issue léthale. Elles commencent pendant la transfusion ou immédiatement après et consistent en une vasodilatation périphérique, oppression rétrosternale, dyspnée, hypotension artérielle, frissons, douleurs lombaires, fièvre et et hémoglobinurie. Ces réactions se produisent généralement quand on

fait des transfusions entre individus des groupes incompatibles et quelquefois en employant des donneurs universels avec un plasma très riche en agglutinines. Les réactions tardives sont beaucoup moins intenses; elles se manifestent par un malaise, céphalalgie, nausée, prurit, oedèmes localisés, urticaire, frissons et fièvre. On les attribue à deux causes diverses: à une hétérogénéité humorale (Weil et Isch-Wall) ou à une hétérogénéité du sang transfusé par effet du commencement de la coagulation (Mino). Les troubles décrits constituent l'ensemble des symptômes auquel on a donné le nom de crise hémoclasique due à la présence des protéines hétérogènes.

Cependant on ne doit pas considérer la diversité des groupes, à priori comme indice d'hétérogéné té et pourtant de toxicité, puisque le choc hémoclasique n'est subordonné qu'à la condition que l'agglutination et l'hémolyse se produisent par la mélange des deux sang. Les substances toxiques ne proviennent, en ce cas, ni du plasma, ni même, selon les recherches de Maldovan, de l'hémoglobine, mais du stroma des globules agglutinés et détruits. La crise hémoclasique se produit également par l'introduction dans la circulation des globules rouges lavés d'un groupe incompatible, pendant que le plasma de la même espèce ne se comporte pas comme une albumine hétérogène et ne provoque pas de choc, L'hypothèse que les manoeuvres de transfusion occasionnent des altérations du sang, semble fondée, La simple exposition du sang à l'air suffit à modifier ses conditions physiologiques à cause de la perte d'anhydride carbonique, le commencement du processus de coagulation détermine un ensemble d'altérations qui changent profondément la nature des substances protéiques du plasma sanguin.

On conçoit aisément que ces modifications peuvent être plus ou moins considerablés selon la technique de la transfusion et du transfuseur, mais pour expliquer l'apparition incostante des troubles tardifs, il semble raisonnable d'invoquer en outre un facteur purement individuel dépendant des conditions particulières de sensibilité et de réactivité du receveur, telles conditions se sont présentées à nous souvent chez des individus intoxiquées, dépéris ou en proie à des processus graves de sepricémie.

En étudiant les divers types de choc: peptonique, anaphylactique, traumatique, le choc qui succède à les injections des métaux colloïdaux, on a fait beaucoup de recherches sur l'équilibre acide-base du sang, Les résultats ne furent pas concordants, de même que les interprétations des variations observées ne furent point uniformes.

Dans le désir d'approfondir nos connaissances des troubles dus à la transfusion, nous avons étudié les variations de l'équilibre acide-base

du sang par suite des transfusions à cours normal et par suite des transfusions accompagnées des phénomènes du choc hémoclasique.

Nous avons effectué nos recherches toujours sur du sang prélevé des veines du pli du coude avec les plus scrupuleuses précautions techniques nécessaires dans ce genre d'examens.

Pour la determination de pH nous nous sommes servi du potentiomètre et de la pile-étalon de la Maison Northrup de Philadelphie ainsi que de l'électrode-seringue de Mislowitzer.

La réserve alcaline a été mesurée avec l'appareil de Van Slyke.

Tansfusions entre des individus du meme groupe, ou du groupe compatible. — Les transfusions ont été exécutéés avec des ampoules paraffinées, Dans tous les cas on a transfusé 200 cc, de sang pur.

Nº	Nom	Indication de la transfusion	Avant la transfusion		Observations	30 minutes après la transfusion	
			pH.	R. A.		pH.	R. A.
1	M. C.	Cachexie par suite d'une tumeur intestinale....................	7,32	55	aucun trouble	7,23	43
2	L. S.	Cachexie par suite d'une tumeur du testicule	7,27	56	aucun trouble	7,27	52
3	S. C.	Choc postopératoire	7,13	42	aucun trouble	7,19	44
4	L. M.	Transfusion postopératoire	7,32	56	aucun trouble	7,28	50
5	B. G.	Ulcére de l'estomac	7,28	50	rougeur frissons	7,26	40
6	S. C.	Transfusion postopératoire	7,24	48	aucun trouble	7,28	52
7	N. L.	Septicémie	7,31	57	aucun trouble	7,27	47

Six transfusions ont été parfaitement tolérés, une a été suivi d'une reaction très moderée.

Le contrôle de pH et de la réserve alcaline, exécuté 30 minutes après la transfusion, a révélé en général de petites différences par rapport aux valeurs obtenues précédemment. Des déplacements vers l'acidité ont eu lieu plus souvent; en deux cas dans lesquels la transfusion avait suivi immédiatement de grave interventions chirurgicales, on a noté un léger déplacement vers l'alcalinité.

Transfusions entre des individus appartenant à des groupes incompatibles. — Nous nous sommes servis d'une seringue paraffinée pour éviter des altérations du sang, Dans chaque cas nous avons injecté 5 cc. de sang du groupe incampatible. Ces recherches ont été effectuées au matin sur des patients à jeun qui avaient gardé le lit.

Nº	Nom	Groupe	Avant la transfusion		Transfusion de 5 cc. de sang	30 minutes après la transfusion		Observations
			pH.	R. A.		pH.	R. A.	
1	V. A.	II	7,36	56	Groupe III	7,29	48	aucun trouble
2	V. L.	II	7,31	57	Groupe III	7,23	44	aucun trouble
3	P. G.	III	7,39	54	Groupe II	7,29	46	Légère rouger et oppression sternale
4	G. M.	I	7,31	52	Groupe II	7,16	38	rouger, dyspnée, céphalalgie, hypotension, frissons, fièvre
5	C. A.	I	7,37	58	Groupe II	7,38	42	rouger, dyspnée, hypotension, frissons, fièvre
6	A. C.	I	7,35	56	Groupe II	7,28	42	aucun trouble
7	F. F.	I	7,39	55	Groupe II	7,26	45	Céphalalgie, rouger, dyspnée, hypotension artérielle, frissons, fièvre

L'introduction du sang incompatible a produit, dans un certain nombre de cas, le quadre clinique du choc hémoclasique et, dans d'autres, n'a donné lieu à aucun phénomène appréciable.

Dans tous les cas on a constaté une diminution du pH du sang ainsi qu'un abaissement de la R. A.; parfois ces diminutions ont été considérables. La constante diminution du pH, même dans des cas ou l'on n'a pas observé le quadre clinique du choc, démontre que l'acidose constatée n'est pas la conséquence des troubles circulatoires et respiratoires produits par le choc, mais qu'elle dépend probablement des modifications de l'équilibre colloïdal du plasma. Il paraît que quelque modification en ce sens se produit parfois aussi par suite des transfusions du sang du même groupe.

CONCLUSIONS.

Dans les cas de troubles par transfusions du sang compatible ou incompatible, nous avons toujours enregistré un déplacement de la R, A, e du pH vers l'acidité.

Institut de Pathologie Chirurgical de Turin.

BIANCALANA L. et TENEFF S. – **Modifications du pouvoir iso-agglutinant des sérums:** 1) **Dans la préparation des donneurs de sang immune.** 2) **Après les opérations chirurgicales.**

(Communication au III.ème Congrès de Microbiologie de Milan).

Dans recherches précédentes, sur les causes des accidents qui se vérifient dans les transfusions répétées, nous avons adressé l'attention au comportement des agglutinines *a*, et *b*, après les injections de lait et de sang contenant l'agglutinogène antigène. Les resultats nous ont permis d'assurer que les iso-agglutinines sont susceptibles, comme les agglutinines bactériques d'activation aspécifique et spécifique, par l'hétéroprotéinothérapie nous avons vu se redoubler et se tripler le titre des agglutinines, par des transfusions de sang *A* et *B*, en individus *O*, le pouvoir agglutinant a rejoint des valeurs qui étaient six, huit fois supérieures à ceux que nous avoins trouvées avant. Par les recherches que nous allons rapporter, nous avons étendu les études sur le comportement des agglutinines. On a vérifié le titre avant et après les injections de vaccins, avant et après les opérations chirurgicales.

1) Dans la préparation des donneurs de sang immune.

Nous avons cru utile cette recherche par le fait du croissant consentement que l'immuno-transfusion va toujours acquérant. Le moment plus important de cette nouvelle forme de transfusion, qui se présente riche d'applications et de promesses, est naturellement la préparation du donneur. Seulement lorsqu'on donnera à cette préparation l'importance nécessaire, l'immuno-transfusion pourra remplacer avec profit la sérumthérapie. La vaccination du donneur doit être pratiquèe avec doses progressivement croissantes d'un bon antigène microbien. À la préparation des anticorps humorals quelquels auteurs conseillent d'associer l'activation de la phagocytose des globules blancs du donneur, qu'on peut obtenir par la méthode de Wright. Nous nous sommes intéressés des effets que cette préparation a sur le pouvoir iso-agglutinant du sang du donneur. Dans les immuno-transfusions, et dans les transfusions ordinaires, on donné naturellement la préférence aux donneurs du même groupe. En absence de ceux-ci on peut employer aussi les donneurs universels pourqui le sang du donneur, d'ordinaire ne pêut pas agglutiner les globules du receveur. En effet la diluition des agglutinines du sang transfusé dans la totalité du sang du receveur, et l'inhibition exercitée par le plasma du sang du receveur, rendent bien difficile l'agglutination.

Les conditions changent lorsque la quantité du sang du receveur est très réduite (anémies graves) et lorsque les iso-agglutinines du don-

Nº	Nome	Gr.	Isoagglutinat.		Agglutination				Traitement	Observations	Isoagglutinat.		Agglutination			
			A	B	Tiphus 2	Tiphus 3	Paratiphus A	Paratiphus B			A	B	Tiphus 2	Tiphus 3	Paratiphus A	Paratiphus B
									1º — VACCINATION ANTITYPHIQUE							
1	R. T.	I	1:325	1:200	—	1:50	—	—	3 iniect. de vacc. antityphique I. S. M.	pas de réact.	1:325	1:200	1:200	1:200	—	—
2	A. I.	III	1:100	—	—	—	—	—	Id. id.	Id. id.	1:100	—	1:50	1:100	—	—
3	T. S.	III	1:50	—	1:50	—	—	—	Id. id.	Id. id.	1:50	—	1:100	1:50	—	—
4	V. I.	II	—	1:225	1:50	—	—	—	Id. id.	Id. id.	—	1:225	1:200	1:100	—	—
5	M. G.	II	—	1:25	—	—	—	—	1 iniect. di lipovaccine antityphique T. A. B.	temp. 38°	—	1:25	1:100	1:100	1:100	1:50
6	L. S.	II	—	1:25	—	—	—	—	Id. id.		—	1:25	1:200	1:200	—	—
									2º — VACCINATION PAR STOCK VACCINS ANTISTAFILO-STREPTOCOCCIQUES							
1	P. A.	I	1:50	1:15	—	—	—	—	7 iniet. de vacc. antistaph. I. S. N.	pas de réact.	1:50	1:25	—	—	—	—
2	D. G.	I	1:150	1:100	—	—	—	—	8 id. antistreptococcus I. S. N.	Id. id.	1:150	1:100	—	—	—	—
									3º — VACCINATION PAR AUTOVACCINS À LA WRIGHT							
1	S. M.	I	1:375	1:300	—	—	—	—	5 iniect. de doses doubles de autovaccine staphilostrept.	temp. 39°,5	1:500	1:450	—	—	—	—
2	F. S.	I	1:50	1:50	—	—	—	—	8 Id. id.	id. 39°	1:100	1:100	—	—	—	—
3	L. P.	II	—	1:150	—	—	—	—	6 Id. id.	id. 38°,5	—	1:500	—	—	—	—
4	Z. D.	II	—	1:25	—	—	—	—	5 iniect. de autovacc. avec streptocoque Viridans.		—	1:25	—	—	—	—
5	P. T.	II	—	1:25	—	—	—	—	6 Id. id.	id. 38°,5	—	1:100	—	—	—	—

neur ont un haut titre. On nomme pour celà, donneurs dangereux, les individus qui appartennent au groupe O, et qui sont fournis d'un pouvoir iso-agglutinant trés élevé, qui peut faire sentir son action sur les hématies du receveur. Nous nous sommes demandé si la vaccination des donneurs augmente le titre des iso-agglutinines et dans le cas des donneurs universels si elle peut les transformer en donneur dangereux.

Pour répondre à la première question, nous avons titrê les iso-agglutinines aprés les vaccinations antibacteriennes pratiquées avec stock-vaccins, et avec auto-vaccins Wright récemment et expréssément préparés au but d'immuniser les donneurs de sang. Nous avons décidé de négliger le control des effets de les efficaces immunisations qui s'obtienent associant la vaccino-thérapie à la protéinothérapie aspécifique (Cantani). Parce que les recherches précédentes nous avaient déjà démontré que les injections de lait peuvent redoubler ou tripler le pouvoir iso-agglutinant normal.

Dans les recherches nous nous sommes servis en général d'individus faisant partie du groupe des donneurs de sang, de la ville de Turin. Quelques-uns avaient été traités exprés pour nous fournir du sang immune.

RÉSULTATS.

Les vaccinations anti-typhique pratiquées ont stimulé la formation des agglutinines pour le typhus, mais n'ont pas changé le titre des iso-agglutinines. Deux vaccinations exécutées avec stock-vaccins streptococciques et staphylococciques ont données dans un cas une petite augmentation d'une agglutinine. Les auto-vaccins staphylo-streptococciques et viridans ont quelques fois redoublé, triplé et quadruplé le pouvoir isoagglutinant. On a vu en général augmenté le titre des iso-agglutinines, quand la vaccination avait provoquées des réactions fébriles plutôt notables.

***

Ces recherches ont démontré qui subsiste la possibilité que la préparation du donneur de sang immun provoque une augmentation notable du tître des iso-agglutinines du sang. Ceci ne vent pas dire qu'une telle augmentation dans le sang d'un donneur universel doive absolument le rendre dangereux. Les suppositions qu'on pourrait trouver de l'observation des procédés d'agglutination — in vitro — ne sont pas applicable — in vivo —. Même la conception du donneur universel dangereux parce qu'il est fourni d'agglutinines à haut tître, est vague et pas facile à concréter en chiffres tant pour les diversités tecnique du dosage, que

pour les differences individuées dans l'appreciation quantitatif des reactions groupe-specifiques. Dans tous les cas les observations faites nous sugèrent quelques considérations conclusives.

CONCLUSIONS.

On considère donneurs universels dangereux, ceux qui sont dotés d'iso-agglutinines à haut titre. La préparation des donneurs à l'immuno-transfusion comporte quelquefois une âugmentation du pouvoir iso-agglutinant. Une telle augmentation s'est observée de préférence dans les individus dans lesquels l'immunisation a été accompagnée de réaction febrile. On croit donc prudent dans les immuno-transfusions, plus encore que dans les transfusions communes, de choisir le donneur du même groupe que le receveur. Devant se servir d'un donneur universel, il faut contrôler l'intensité de la réaction provoquée par la vaccination et éventuellement s'orienter sur le titre de ses iso-agglutinines.

2) Apres les operations chirurgicales.

Dans ces recherches nous avons contrôle le titre des iso-agglutinines après opérations chirurgicales plus ou moins graves exécutées en anastésie locale ou générale. Le contrôle a été exécuté à distance de sept jours de l'operation.

N°	Nom	Ans	Groupe	Avant l'opération iso-agglutination			Après l'opération iso-agglutination	
				A	B		A	B
1	G. I.	24	I	1 : 100	1 : 125	Anésthesie avec l'etylène; gastroenterostomie par ulcère gastrique T. 38°	1 : 50	1 : 75
2	B. G.	25	II	—	1 : 100	Rachianesthesia anestesie ostéotomie. T. 38°	—	1 : 75
3	G. M.	22	I	1 : 50	1 : 75	Anésthesie locale; enucleation adenome de la glande thyroïde T. 38° 2	1 : 25	1 : 25
4	F. E.	26	I	1 : 100	1 : 100	Rachianesthesie appendidicectomie. T. 37°,5.	1 : 100	1 : 100
5	V. G.	34	II	—	1 : 225	Anéstesie avec l'étère; salpingectomie avec fixation de l'uterus suivant Pestalozza. T. 39°	—	1 : 100

Les résultats obtenus aprés ces peu des cas sont suffisants à démontrer que le titre des iso-agglutinines diminue à la suite des opérations chirurgicales. La diminution du pouvoir iso-agglutinant, concorde avec l'abaissement des pouvoirs immunitaires obsérvés après les opérations chirurgicales.

Direttore responsabile: Dr. Prof. A. Zironi